

ISSN 1728-0869

ЭКОЛОГИЯ



ЧЕЛОВЕКА

**EKOLOGIYA CHELOVEKA
(HUMAN ECOLOGY)**

Volume 29, Issue 3, 2022

3

Том 29

2022


ЭКО • БЕКТОР

ЭКОЛОГИЯ

Ч Е Л О В Е К А

Ежемесячный научный рецензируемый журнал

Том 29 • № 3 • 2022

УЧРЕДИТЕЛИ:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; Общество с ограниченной ответственностью «Эко-Вектор»

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор) 20 марта 2020 г. Регистрационный номер ПИ № ФС77-78166

ИЗДАТЕЛЬ:

ООО «Эко-Вектор»

Адрес: 191186, г. Санкт-Петербург, Аптекарский

переулок, д. 3, литера А, помещение 1Н

E-mail: info@eco-vector.com

WEB: https://eco-vector.com

РЕДАКЦИЯ:

Адрес: 163069, г. Архангельск, пр. Троицкий, 51.

Тел. +7 (818) 220 6563;

E-mail: he-office@eco-vector.com

ИНДЕКСАЦИЯ:

– SCOPUS

– Google Scholar

– Ulrich's Periodicals directory

– ядро РИНЦ

– Russian Science Citation Index

– Norwegian National Center for Research Data

– реферативный журнал и база данных

ВИНИТИ

– Global Health

– CAB Abstracts

– ProQuest

– InfoBase Index

– EBSCO Publishing (на платформе EBSCOhost)

– КиберЛенинка

Оригинал-макет подготовлен в издательстве «Эко-Вектор».

Литературный редактор: О.Н. Гаенко

Корректор: О.Н. Гаенко

Вёрстка: О.В. Устинкова

Сдано в набор 14.05.2022.

Подписано в печать 24.05.2022.

Формат 60 × 88%. Печать офсетная.

Заказ 2-4245-Х. Цена свободная.

Печ. л. 95. Уч.-изд. л. 8,8. Усл. печ. л. 5,18.

Тираж 300 экз.

Отпечатано в ООО «Типография Экспресс В2В»

191180, Санкт-Петербург, наб. реки Фонтанки,

д. 104, лит. А, пом. 3Н, оф. 1.

Тел.: +7 (812) 646 33 77

ПОДПИСКА:

https://journals.eco-vector.com

OPEN ACCESS:

В электронном виде журнал распространяется бесплатно — в режиме немедленного открытого доступа.

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ:

Тел.: +7(495) 308-83-89

E-mail: adv@eco-vector.com

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных материалов. Точка зрения авторов может не совпадать с мнением редакции. К публикации принимаются только статьи, подготовленные в соответствии с правилами для авторов. Направляя статью в редакцию, авторы принимают условия договора публичной оферты. С правилами для авторов и договором публичной оферты можно ознакомиться на сайте: <https://hum-ecol.ru>.

16+

Экология человека. 2022. Т. 29, № 3.

Основным направлением деятельности журнала является публикация результатов научных исследований, посвященных проблемам экологии человека и имеющих как фундаментальное, так и прикладное значение.

Тематика и специализация журнала включает эколого-физиологические основы жизнедеятельности человека, экологию природных и социальных катастроф, воспроизводство населения и демографические процессы, а также вопросы общественного здоровья и социальной политики.

Журнал ориентирован на широкий круг научной общественности, практических врачей, экологов, биологов, социальных работников, работников сферы образования и др.

В журнале публикуются оригинальные статьи, обзоры и краткие сообщения по всем аспектам экологии человека и общественного здоровья.

Профили, по которым журнал включен в «Перечень ВАК»: 03.00.00. Биологические науки, 03.02.00. Общая биология, 03.03.00. Физиология, 14.00.00. Медицинские науки, 14.01.00. Клиническая медицина, 14.02.00. Профилактическая медицина, 05.00.00. Технические науки, 05.26.00. Безопасность деятельности человека.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор — **А. М. Гржибовский** (Архангельск)

Заместители главного редактора:

А. Б. Гудков (Архангельск), **И. Б. Ушаков** (Москва)

Научный редактор — **П. И. Сидоров** (Архангельск)

Международный редактор — **Й. О. Одланд** (Норвегия)

Ответственный секретарь — **В. А. Постоев** (Архангельск)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

И. Н. Болотов (Архангельск), Р. В. Бузинов (Архангельск), П. Вейхе (Фарерские острова), М. Гисслер (Финляндия/Швеция), Л. Н. Горбатова (Архангельск), А. В. Грибанов (Архангельск), Р. Джонсон (США), Н. В. Доршакова (Петрозаводск), П. С. Журавлев (Архангельск), Н. В. Зайцева (Пермь), А. Ингве (Швеция), Р. Каледене (Литва), В. А. Карпин (Сургут), П. Магнус (Норвегия), В. И. Макарова (Архангельск), А. Л. Максимов (Магадан), А. О. Марьяндышев (Архангельск), И. Г. Мосягин (Санкт-Петербург), Э. Нибоер (Канада), Г. Г. Онищенко (Москва), К. Пярна (Эстония), А. Раутио (Финляндия), Ю. А. Рахманин (Москва), Г. Роллин (ЮАР), М. Рудге (Бразилия), Й. Руис (Испания), А. Г. Соловьев (Архангельск), Г. А. Софронов (Санкт-Петербург), В. И. Торшин (Москва), Т. Н. Унгурияну (Архангельск), В. П. Чашин (Санкт-Петербург), В. А. Черешнев (Москва), З. Ши (Катар), К. Ю (Китай), К. Янг (Канада)

EKOLOGIYA

C H E L O V E K A (H U M A N E C O L O G Y)

Monthly peer-reviewed journal

Volume 29 • Issue 3 • 2022

Human Ecology is a peer-reviewed Russian journal with the main focus on research and practice in the fields of human ecology and public health.

The journal publishes original articles, review papers and materials on research methodology.

The primary audience of the journal includes health professionals, environmental specialists, biomedical researchers and post-graduate students.

Although we welcome papers from all over the world special attention is given to manuscripts on Arctic health research.

The mission of the journal is to publish quality-assured research in all fields related to human ecology and to integrate research and researchers from Russian-speaking countries into the international scientific community.

EDITORIAL BOARD:

Editor-in-Chief: **A. M. Grjibovski** (Arkhangelsk)

Deputy Editors-in-Chief:

A. B. Gudkov (Arkhangelsk), **I. B. Ushakov** (Moscow)

Science Editor: **P. I. Sidorov** (Arkhangelsk)

International Editor: **J. Ø. Odland** (Norway)

Executive Secretary: **V. A. Postoev** (Arkhangelsk)

EDITORIAL COUNCIL:

- I. N. Bolotov (Arkhangelsk), R. V. Buzinov (Arkhangelsk), P. Weihe (Faroe Islands), M. Gissler (Finland/Sweden), L. N. Gorbatova (Arkhangelsk), A. V. Gribanov (Arkhangelsk), R. Johnson (USA), N. V. Dorshakova (Petrozavodsk), P. S. Zhuravlev (Arkhangelsk), N. V. Zaitseva (Perm), A. Yngve (Sweden), R. Kalediene (Lithuania), V. A. Karpin (Surgut), P. Magnus (Norway), V. I. Makarova (Arkhangelsk), A. L. Maksimov (Magadan), A. O. Maryandyshev (Arkhangelsk), I. G. Mosyagin (Saint Petersburg), E. Nieboer (Canada), G. G. Onishchenko (Moscow), K. Pärna (Estonia), A. Rautio (Finland), Ya. A. Rakhmanin (Moscow), H. Rollin (South Africa), M. Rudge (Brazil), J. Ruiz (Spain), A. G. Soloviev (Arkhangelsk), G. A. Sofronov (Saint Petersburg), V. I. Torshin (Moscow), T. N. Unguryanu (Arkhangelsk), V. P. Chashchin (Saint Petersburg), V. A. Chereshev (Moscow), Z. Shi (Qatar), C. Yu (China), K. Young (Canada)



ECO • VECTOR

FOUNDERS:

Northern State Medical University;
Eco-Vector

PUBLISHER:

Eco-Vector

Address: 3 liter A, 1H, Aptekarsky pereulok,

191186, Saint Petersburg Russian Federation

E-mail: info@eco-vector.com

WEB: https://eco-vector.com

EDITORIAL OFFICE:

E-mail: he-office@eco-vector.com

Phone: +7 (818) 2206563

PUBLICATION ETHICS

Journal's ethic policies are based on:

– ICMJE

– COPE

– ORE

– CSE

– EASE

OPEN ACCESS:

Immediate Open Access is mandatory for all published articles

INDEXATION:

– SCOPUS

– Google Scholar

– Ulrich's Periodicals directory

– Russian Science Citation Index

– Norwegian National Center for Research

Data

– Global Health

– CAB Abstracts

– ProQuest

– InfoBase Index

TYPESET:

complete in Eco-Vector

Copyeditor: O.N. Gaenko

Proofreader: O.N. Gaenko

Layout editor: O.V. Ustinkova

SUBSCRIPTION:

www.journals.eco-vector.com

ADVERTISEMENT DEPARTMENT:

Phone: +7 (495) 308 83 89

E-mail: adv@eco-vector.com

The editors are not responsible for the content of advertising materials. The point of view of the authors may not coincide with the opinion of the editors. Only articles prepared in accordance with the guidelines are accepted for publication. By sending the article to the editor, the authors accept the terms of the public offer agreement. The guidelines for authors and the public offer agreement can be found on the website: <https://hum-ecol.ru>.

СОДЕРЖАНИЕ

А.Л. Ивлиева, И. Зиньковская, Е.Н. Петрицкая, Д.А. Рогаткин

Наночастицы и наноматериалы — неизбежные современные токсичные агенты.

Обзор. Часть 2. Основные направления исследований токсичности и методы

измерения содержания наночастиц в биологической ткани 147

Т.А. Агишина, А.В. Концевая, М.Г. Гамбарян, О.М. Драпкина

Оценка влияния антитабачного законодательства на госпитализацию пациентов

с заболеваниями органов дыхания в трёх регионах Российской Федерации 163

М.И. Бочаров, А.С. Шилов

Анализ вариаций биоэлектрической активности сердца человека при острых

гипоксических воздействиях 175

Ф.А. Бичкаева, О.С. Власова, Б.А. Шенгоф, А.А. Бичкаев, Е.В. Нестерова, Н.И. Волкова

Возрастные изменения концентрации глюкозы, её метаболитов и активности

аминотрансфераз у женщин и мужчин зрелого и пожилого возраста 187

А.Р. Лавренов, К.Г. Орджоникидзе, В.С. Румак, А.И. Ким, Н.В. Умнова

Оценка начальных проявлений токсического процесса в условиях хронического

действия малых субтоксичных доз диоксинов, загрязняющих среду 199

А.М. Гржибовский, А.Н. Гвоздецкий

Интерпретация величины r и альтернативы её использованию в биомедицинских исследованиях 209

CONTENTS

A.L. Ivlieva, I. Zinicovskaia, E.N. Petritskaya, D.A. Rogatkin

Nanoparticles and nanomaterials as inevitable modern toxic agents. Review.

Part 2. Main areas of research on toxicity and techniques to measure a content of nanoparticles in tissues 147

T.A. Agishina, A.V. Kontsevaya, M.G. Gambaryan, O.M. Drapkina

Impact of anti-tobacco legislation on hospitalization of patients with respiratory diseases

in three regions of the Russian Federation 163

M.I. Bocharov, A.S. Shilov

Variations of human heart bioelectrical signals at hypoxic exposure 175

F.A. Bichkaeva, O.S. Vlasova, B.A. Shengof, A.A. Bichkaev, E.V. Nesterova, N.I. Volkova

Age-related changes in the glucose level, its metabolites, and aminotransferases activity

in women and men of mature and elderly age 187

A.R. Lavrenov, K.G. Ordzhonikidze, V.S. Roumak, A.I. Kim, N.V. Umnova

Evaluation of the initial manifestations of the toxic process in conditions of chronic action

of low subtoxic doses of dioxins polluting the environment 199

A.M. Grjibovski, A.N. Gvozdeckii

Interpretation of and alternatives to *p*-values in biomedical sciences 209

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco100156>

Наночастицы и наноматериалы — неизбежные современные токсичные агенты. Обзор.

Часть 2. Основные направления исследований токсичности и методы измерения содержания наночастиц в биологической ткани

А.Л. Ивлиева¹, И. Зиньковская², Е.Н. Петрицкая¹, Д.А. Рогаткин¹

¹ Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Российская Федерация

² Объединённый институт ядерных исследований, Дубна, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Во второй части обзора рассматриваются три основных направления исследований токсичности наночастиц (НЧ): токсичность НЧ, содержащихся в окружающей среде; молекулярные механизмы токсичности; репродуктивная токсичность. Описаны исследования, проведённые на водных и почвенных модельных организмах, с рассмотрением эффектов НЧ в близких к природным концентрациях и в водах с разной солёностью, а также в сравнении с влиянием ионов. Перечислены работы, посвящённые различным аспектам вызываемого НЧ окислительного стресса, приведена оценка генотоксичности и мутагенности НЧ разными стандартными методами, рассмотрены известные на сегодняшний день сведения об образовании белковых корон вокруг НЧ. Подняты вопросы о дозозависимости эффектов и о влиянии применённого стабилизирующего покрытия. Рассмотрено влияние НЧ на пренатальное и постнатальное развитие различных модельных видов позвоночных, включая морфологические нарушения, изменения экспрессии генов и поведение выросших особей, а также на репродуктивную систему у взрослых самок и самцов. Рассмотрены также основные методы количественного определения содержания НЧ в биологических образцах как неотъемлемый этап исследований по токсичности НЧ для человека и животных.

Ключевые слова: наночастицы; токсичность; производство наночастиц; мозг; поведение животных; развитие мозга.

Как цитировать:

Ивлиева А.Л., Зиньковская И., Петрицкая Е.Н., Рогаткин Д.А. Наночастицы и наноматериалы — неизбежные современные токсичные агенты. Обзор. Часть 2. Основные направления исследований токсичности и методы измерения содержания наночастиц в биологической ткани // Экология человека. 2022. Т. 29, № 3. С. 147–162. DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco100156>

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco100156>

Nanoparticles and nanomaterials as inevitable modern toxic agents. Review. Part 2. Main areas of research on toxicity and techniques to measure a content of nanoparticles in tissues

Alexandra L. Ivlieva¹, Inga Zinicovscaia², Elena N. Petritskaya¹, Dmitriy A. Rogatkin¹

¹ Moscow regional research and clinical institute named after M.F. Vladimirovsky, Moscow, Russian Federation

² Joint institute for nuclear research, Dubna, Russian Federation

ABSTRACT

The second part of the review considers the following three main areas of research on the toxicity of nanoparticles (NPs): environmental toxicity, molecular mechanisms of toxicity, and reproductive toxicity. The studies carried out on aquatic and soil model organisms are described, with consideration of the effects of NPs in concentrations close to natural in water with different salinity, as well as in comparison with the effects of ions. The articles devoted to various aspects of NP-induced oxidative stress are listed, the estimations of genotoxicity and mutagenicity of NPs using different standard methods are described, and the currently known data on the formation of protein crowns around NPs are considered. Questions are stated about the dose-dependence of effects and the influence of the applied stabilizing coating. The influence of NPs on the prenatal and postnatal development of various model vertebrate species is considered, which includes morphological disturbances, changes in gene expression and in the behavior of grown animals, as well as the influence on the reproductive system in adult females and males. The main methods for the quantitative measurements of the content of NPs in biological samples are also considered as the necessary stage of research on the toxicity of NPs for humans and animals.

Keywords: nanoparticles; toxicity; production of nanoparticles; brain; animal behavior; brain development.

To cite this article:

Ivlieva AL, Zinicovscaia I, Petritskaya EN, Rogatkin DA. Nanoparticles and nanomaterials as inevitable modern toxic agents. Review. Part 2. Main areas of research on toxicity and techniques to measure a content of nanoparticles in tissues. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2022;29(3):147–162.

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco100156>

Received: 03.02.2022

Accepted: 24.02.2022

Published: 10.06.2022

3. ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ ТОКСИЧНОСТИ НАНОЧАСТИЦ

3.2. Токсичность наночастиц, содержащихся в окружающей среде

Из-за широты применения наночастиц (НЧ) в промышленности, в быту и в медицине они неизбежно попадают в воду, воздух, почву, а через среду — в живые организмы, от бактерий до человека. В связи с этим динамично изучается проблема токсичности НЧ, содержащихся в окружающей среде (*environmental toxicity*). Значительную часть исследований проводят на распространённых модельных организмах (крысы, мыши, данио-рерио *Danio rerio*, дафния *Daphnia* sp., почвенная нематода *Caenorhabditis elegans*), а также на разных видах небольших рыб, фито- и зоопланктоне [1].

В частности, пресноводный рачок дафния *Daphnia* sp. (чаще используют вид *Daphnia magna*) является признанным организмом-индикатором токсичности воды. Существуют стандартизованные процедуры по оценке токсичности веществ из окружающей среды на дафниях [2]. С их помощью в ряде работ было выявлено, что после острого контакта (двое суток) с коллоидным раствором НЧ серебра (без покрытия) в стандартной среде для содержания дафний (Elendt M4 medium) поведение рачков становилось абнормальным [3, 4]. Были нарушены вертикальные и горизонтальные миграции, многие рачки плавали бессистемно. НЧ накапливались у рачков в пищеварительном тракте и на карапаксе. Смертность возрастала с увеличением содержания НЧ в среде. Было отмечено, что токсичность при применении растворов, приготовленных путём смешивания порошка НЧ с водой для дафний, была ниже, чем при использовании разведённых готовых коллоидных растворов НЧ [3]. При отсутствии нарушений плавания дафнии, контактировавшие с НЧ серебра (цитрат в качестве покрытия), не реагировали на присутствие хищника [4]. Выживаемость рачков значительно падала в присутствии хищника независимо от наличия НЧ в среде. Однако средний уровень репродукции у контактировавших с НЧ дафний возрос: на треть при отсутствии хищника и почти вдвое — при его наличии.

Изучалось влияние содержания солей в воде водоема на токсические эффекты НЧ серебра без покрытия и дозозависимость эффекта [5]. Молодые радужные форели *Oncorhynchus mykiss* провели в среде с НЧ серебра 14 дней при различной солёности воды: низкой (0,4 ppt), средней ($6 \pm 0,3$ ppt) или высокой ($12 \pm 0,2$ ppt). Содержание НЧ серебра составляло 0,032; 0,1; 0,32 и 1,0 ppt при низкой солёности. При средней и высокой солёности воды содержание НЧ серебра составляло 3,2; 10; 32 и 100 ppt. Агломерации и осаждения НЧ не наблюдалось при низкой солёности воды, но обнаруживалось при средней

и высокой солёности. При всех уровнях солёности накопление серебра в органах и тканях было дозозависимым. Больше всего серебра накопилось в печени, а также в почках, жабрах; меньше всего — в белых мышечных волокнах. Отношение массы печени к массе тела возрастало с увеличением концентрации НЧ.

Влияние солёности среды обитания, а также сравнительные эффекты влияния НЧ серебра, его стабилизирующего покрытия и ионов серебра (Ag^+) подробно описаны в ряде работ [6, 7]. Обитатели эстуариев, устрицы *Scrobicularia plana*, провели некоторое время в растворах НЧ серебра с концентрацией 10 мкг/л, его стабилизирующего покрытия и соединения сорбитана монолаурата с полиоксидиленом, или в содержащем серебро в виде ионов растворе при двух различных концентрациях солей в воде [6]. Содержание серебра, как НЧ, так и иона, в пищеварительной железе экспериментальных устриц было выше, чем в контрольной группе и в группе с раствором покрытия, но выше при меньшей солёности. В клетках экспериментальных моллюсков серебро накапливалось преимущественно в цитозоле, в то время как в остальных двух группах — в нерастворимой фракции. Во всех группах, кроме контрольной, были выявлены признаки окислительного стресса, т.е. пониженное содержание антиоксидантов и окисление липидов. Наиболее выражены эти признаки были при более низкой солёности (развился апоптоз), а также у моллюсков, экспонированных НЧ серебра, что связано с повышенным накоплением серебра при низкой солёности. Во всех группах, кроме контрольной, проявились нарушения поведения при обоих уровнях солёности: например, устрицы реже зарывались в грунт.

В некоторых работах изучалась сравнительная токсичность НЧ серебра со стабилизирующим покрытием и Ag^+ [8]. Взрослых самок небольшой рыбы, чёрного толстоголова *Pimephales promelas*, подвергали экспозиции НЧ (покрытие — поливинилпирролидон (PVP), 61,4 мкг/л) или Ag^+ (4,8 мкг/л) в течение трёх суток. Транскриптомный анализ показал, что обе формы серебра повлияли на биохимические пути, связанные с гомеостазом ионов натрия, калия и водорода, а также с окислительным стрессом. Обе формы серебра затронули несколько путей, ведущих к неврологическим нарушениям, а среди подверженных влиянию рецепторов и лигандов были обнаружены рецептор эстрогена GPER, рецептор серотонина HTR2A, рецептор уротензина 2 UTS2R, дофамин, трийодтирозин, бета-эстрадиол, норэпинефрин и прогестерон. В печени биохимические пути, затронутые влиянием серебра, тоже были сходны в группах с НЧ и с Ag^+ . Однако высказано предположение, что токсические эффекты в печени были обусловлены главным образом влиянием Ag^+ . Наночастицы и Ag^+ разным образом оказывали и нейротоксические эффекты. В мозге воздействие НЧ серебра было более выражено, чем действие ионов Ag^+ .

Для НЧ других материалов также получено много данных об их токсичности. Например, молодых нематод

дикого типа и мутантных по генам белков, связанных с окислительным стрессом и клеточным ответом на него, подвергали острому контакту с НЧ диоксида титана (TiO_2). Размер частиц соли титана составлял порядка 10 нм в концентрации 20 мкг/л (близкой к оценочному содержанию TiO_2 в водах — 16–24 мкг/л) или 25 мг/л (близкой к содержанию наночастиц TiO_2 в жевательной резинке — 10–25 мг/л). Все мутантные черви демонстрировали сходную с диким типом выживаемость и нормальное развитие. Размер выводка и локомоция у мутантов также не отличались от таковой у дикого типа. Так, даже при уменьшении размера выводка у червей дикого типа при высокой концентрации НЧ у большинства мутантов произошли сходные изменения. Окислительный стресс не развивался при малой концентрации НЧ, однако при большом содержании НЧ у четырёх мутантов он всё же был значимо выражен [9].

3.3. Молекулярные механизмы токсичности наночастиц

Самое многогранное направление исследований — изучение молекулярных и биохимических механизмов цитотоксичности НЧ, в т.ч. генотоксичности [10, 11]. Большинство работ проводят на образцах тканей экспериментальных животных. Однако расширяется применение клеточных культур человека, мышей, данио-рерио и др. К примеру, N. Yin с соавт. [12] с помощью клеточных культур смогли системно рассмотреть влияние НЧ серебра (размер — 34 нм, покрытие — цитрат) и Ag^+ на развитие культивируемых эмбриональных стволовых клеток мыши по нейрональному пути. Сначала в среду к клеткам, содержащую ингибитор дифференциации, добавляли от 0,001 до 1 мкг/мл коллоидного раствора НЧ, раствора цитрата или нитрата серебра и инкубировали 2, 4, 12, 24, 48 или 96 ч. После окрашивания культур угнетения пролиферации клеток не наблюдали ни в одном из образцов. Увеличение содержания кальция в клетках как один из признаков клеточного стресса произошло только в культуре, контактировавшей с НЧ серебра в концентрации 1 мкг/мл. Затем клетки культивировали 28 дней в среде, не содержащей ингибитор дифференциации, с добавлением 0,01 или 0,1 мкг/мл указанных выше веществ. В таких условиях клетками были сформированы эмбриоидные тельца (embryoid bodies) — сферические структуры, состоящие из слоёв клеток всех трёх эмбриональных листков, что моделирует ранние стадии эмбрионального развития. Экспрессия маркёров эндодермы, мезодермы и нейроэктодермы почти не отличалась от таковой у контрольной группы.

Затем сформировали две разные модели нейронального развития культуры. В первой модели в среду к эмбриональным тельцам или недифференцированным стволовым клеткам после четырёх дней инкубации добавляли ретиноевую кислоту в течение ещё четырёх дней. Другая модель заключалась в том, что после четырёх

дней инкубации клетки или тельца перемещали ещё на 4 дня в среду, содержащую факторы нейронального развития (N2B27 medium). Концентрация 1 мкг/мл НЧ серебра и Ag^+ вызывала гибель образцов. В модели с ретиноевой кислотой уровни экспрессии шести разных маркёров нейроэктодермы были дозозависимо повышены после контакта с НЧ серебра, но не с Ag^+ . Во второй модели оценили морфологию клеток путём иммунофлуоресцентного окрашивания, ассоциированного с микротрубочками белка-2 (microtubule-associated protein 2, MAP2), важного для формирования цитоскелета отростков нервных клеток. После контакта с НЧ серебра в культурах было выявлено больше морфологически нормальных предшественников нейронов, чем в контроле, т.е. можно говорить о стимуляции нейрогенеза в присутствии НЧ. Напротив, после контакта с Ag^+ очень малое количество клеток производило рассматриваемый протеин (группа 0,1 мкг/мл) или получавшиеся предшественники нейронов отличались искривленными синапсами (группа 0,01 мкг/мл). Были также обнаружены свидетельства влияния серебра на нейрональное развитие через высококонсервативный сигнальный путь Notch, т.е. после контакта с Ag^+ в клетках значительно возросли уровни экспрессии гена трансмембранного рецепторного белка NOTCH1, гена его лиганда и его таргетного гена. После контакта с цельными НЧ серебра эти уровни экспрессии были тоже изменены по сравнению с таковыми в контрольных образцах.

C.-L. Huang с соавт. [13] описывали, как инкубировали с НЧ серебра (размер 3–5 нм, без покрытия) три клеточные культуры мыши: астроциты, клетки микроглии и предварительно подвергнутые дифференциации до нейроноподобной структуры клетки нейробластомы. На 24 ч добавляли НЧ в питательную среду, где содержались клетки, в концентрациях 1, 5, 10 и 12,5 мкг/мл. Было выявлено снижение пролиферации астроцитов и нейроноподобных клеток по сравнению с контрольными культурами, а также выделение клетками всех трёх экспериментальных культур провоспалительного цитокина интерлейкина-1-бета. Увеличение экспрессии генов, связанных с развитием воспаления белков, наблюдали в культурах, подвергшихся влиянию НЧ в концентрациях 5,0–12,5 мкг/мл. В нейроноподобных клетках, экспонированных при содержании НЧ 12,5 мкг/л, после иммунофлуоресцентного окрашивания были обнаружены блоки бета-амилоидов, связанных с развитием болезни Паркинсона. Кроме того, в экспериментальных культурах возросли экспрессия и содержание предшественника амилоидов (APP).

В настоящее время как основной механизм клеточной и молекулярной токсичности НЧ, включая генотоксичность, выделяют развивающийся в присутствии НЧ окислительный стресс [14–16]. Обнаружено, что в эукариотических клетках образование активных форм кислорода, включая свободные радикалы, возрастает в присутствии НЧ. Одновременно снижаются уровень экспрессии

генов и содержание антиоксидантных белков, нарастают повреждения ДНК [17–19], падает содержание и уровень экспрессии структурных белков (миелин в клетках миелиновых оболочек) и регуляторов развития (например, нейронального) [20, 21]. Возрастают уровни экспрессии регуляторов апоптоза, и в конечном итоге клетка его претерпевает. На тканевом уровне развиваются воспаление, отёчность и как крайний исход — некроз [22].

Ряд работ посвящён оценке мутагенности и/или канцерогенности НЧ, степень которых заметно различается между типами НЧ [23–29]. Например, стандартными методами оценивания мутагенности не было обнаружено свидетельств таковой у НЧ золота [23, 27], в то время как НЧ асбеста являются доказанным канцерогенным фактором [25]. Данные о мутагенной активности НЧ серебра значительно различаются при выборе разных методов её оценки. Так, проверка частоты обратных мутаций у граммотрицательных бактерий (тест Эймса — Ames test) не выявила отклонений от контрольного образца, но позже была признана недействительной: наночастицы (размер >10 нм) не были обнаружены в клетках [26, 28].

В растительных клетках (тест с луком репчатым — Allium test) мутагенного действия (различных хромосомных нарушений, в том числе микроядрышек) не обнаружено при концентрациях НЧ серебра до 50 мг/л включительно. Однако при 50 мг/л наблюдали значимую стимуляцию митоза [24]. В клетках костного мозга НЧ серебра вызывали заметное возрастание частоты возникновения хромосомных нарушений (*in vitro* тест на микроядрышки — micronucleus test) и разрывов ДНК. Такое действие НЧ серебра прямо зависело от дозы НЧ и обратно пропорционально их размерам, т.е. чем НЧ меньше, тем выше их генотоксичность и мутагенность [26, 28, 29]. Наночастицы, покрытые цитратом, оказывали более заметное воздействие, чем покрытые PVP [28].

Активному рассмотрению сегодня также подвергается такой аспект взаимодействия НЧ с биополимерами, как образование так называемой белковой короны (protein crown). Биополимеры, в основном белки, адсорбируются на поверхности наночастицы, окружая её и тем самым значительно увеличивая её гидродинамический диаметр, что может приводить на уровне организма к тромбированию мелких артерий и вен [30–32]. Белковая корона начинает формироваться еще до поступления НЧ внутрь клетки. Даже минутные инкубации различных магнитных НЧ в среде для культивирования клеток могут приводить к пятикратному увеличению гидродинамических размеров частиц, не прошедших в клетки [33]. Значение белковой короны настолько велико, что, по мнению ряда исследователей, характер взаимодействия живых систем с НЧ зависит в первую очередь от состава белковой короны, а не от поверхностных характеристик самих НЧ [34]. К тому же поверхность НЧ может вызывать в адсорбированных белковых молекулах конформационные изменения, которые могут привести к появлению

у белков новых, нефизиологических функций, а также повлиять на характер взаимодействия НЧ с клетками [35]. Формирование белковых корон способно не только влиять на уровни поступления НЧ в клетки и их накопление там, потенциально снижая токсичность НЧ для клеток, но и вызывать деградацию самих НЧ и воспалительную реакцию в ткани из-за активации макрофагов [36]. Образование белковой короны вокруг НЧ из аморфного кремния, например, смягчает токсический эффект самого кремния [37]. Как считают некоторые ученые [37], в настоящее время никто не может предсказать состав белковых корон и биологические последствия их образования. Поскольку белковые композиции питательных сред отличаются от белковых композиций биологических жидкостей организмов, то и данные о токсичности белковой короны, полученные *in vitro*, нельзя автоматически экстраполировать на НЧ *in vivo*. В связи с вышеизложенным установление характера и особенностей воздействия образующейся белковой короны, в том числе *in vivo*, является одним из передовых направлений изучения механизмов молекулярной токсичности НЧ [36].

Значительное внимание в работах по изучению токсичности уделено роли материала НЧ, размера НЧ, стабилизирующего их в растворе покрытия (например, для серебра), формы кристаллов (например, для TiO_2), концентрации НЧ в растворе и/или дозы НЧ, а также применённого в работе способа поступления НЧ в организм и длительности экспозиции. В ряде публикаций обсуждается дозозависимое влияние данных факторов на наблюдаемые токсические эффекты [22, 28, 38, 39]. Подтверждено, например, что чем НЧ меньше, тем выше их способность к проникновению в ткани. НЧ размером менее 100 нм могут попадать в мозг благодаря их способности проходить через гематоэнцефалический барьер. Токсические эффекты НЧ серебра, стабилизированных цитратом натрия, считаются менее выраженными, чем у НЧ, покрытых PVP или полиэтиленгликолем-5000 (PEG-5000), потому покрытые цитратом НЧ чаще выбирают в работах, где на влиянии покрытия фокус не заостряется [20, 40, 41]. Известна работа, в которой указана меньшая токсичность НЧ серебра, стабилизированных полифенолами в составе экстракта бузины черной (*Sambucus nigra*), по сравнению с покрытыми цитратом НЧ [42]. Много публикаций посвящено сравнению токсичности НЧ и ионов, причём ионы более токсичны [3, 8, 12, 28, 43]. Из кристаллических форм TiO_2 в исследованиях применяют преимущественно чистый анатаз размерами в пределах 20 нм, а рутил или смесь рутила и анатаза выбирают только при моделировании токсичности промышленных красок, так как они обладают менее выраженными цитотоксическими эффектами [44].

3.4. Репродуктивная токсичность наночастиц

В последние 10 лет активно изучалось влияние НЧ на репродуктивную функцию и на развитие организма

(*reproductive and developmental toxicity*). Это представляет особый интерес в свете возможного контакта молодых женщин с НЧ на производстве. Наиболее часто для исследований в данной области выбирают НЧ серебра и модельные виды позвоночных, таких как данио-рерио и мелкие лабораторные грызуны. К. Park с соавт. [45] оценивал выживаемость эмбрионов данио-рерио в воде для аквариумных рыб с разной степенью солёности воды после контакта с НЧ серебра (8–120 ч после оплодотворения); покрытием служил цитрат. НЧ вызывали задержку вылупления из икринки, замедление сердечного ритма, отёк перикарда и гибель эмбрионов. При этом эффекты были более выражены в воде с низкой солёностью, что могло быть обусловлено агрегацией НЧ при высокой солёности. В сходном эксперименте других исследователей подобное токсическое влияние оказывали как НЧ серебра, покрытые полиакрилатом, так и ионы, однако у Ag^+ эффекты были выражены сильнее [38]. Генерация окислительного стресса произошла у всех экспериментальных животных. Содержание неокисленного глутатиона наиболее сильно снизилось у контактировавших с Ag^+ животных, а общие уровни окисленного глутатиона росли с увеличением содержания серебра в среде. Если в среду к эмбриону одновременно с серебром добавляли L-цистеин, образующий с ионом серебра хелатный комплекс, токсичность обеих форм серебра значительно уменьшалась, что говорит в первую очередь о токсичности Ag^+ . Например, смертность животных в группе ионов серебра с L-цистеином составляла 37% против 77% при отсутствии L-цистеина. Содержание неокисленного глутатиона также было значительно выше, чем без L-цистеина, а содержание окисленного глутатиона оставалось дозозависимым от количества серебра.

Представляет интерес исследование [46], в котором эмбрионы данио-рерио подвергли острому контакту с коллоидным раствором НЧ серебра (покрытием служила олеиновая кислота) двух размеров — 4 и 10 нм, а также с ионами серебра на протяжении разных периодов развития — от 4 до 96 ч после оплодотворения. Концентрации НЧ в растворе составили 0,481; 0,963; 1,925; 3,850; 7,700; 11,550 и 23,100 мг/л, в то время как содержание ионов серебра было выбрано на два порядка меньшим: 0,0015; 0,003; 0,006; 0,018; 0,036 и 0,072 мг/л. Накопление серебра обнаружено преимущественно в голове эмбриона. Количество дефектов у эмбрионов возрастало с увеличением дозы НЧ, при этом НЧ меньшего размера оказывали большее токсическое влияние и в большем объёме накапливались в организме, возможно, благодаря их поступлению через жабры. Однако для Ag^+ схожие по характеру токсические эффекты были обнаружены при концентрациях в 300 раз меньших, хотя и на два порядка превышавших содержание Ag^+ в растворах с НЧ и в чистой воде у контрольной группы. Были обнаружены заметные нарушения развития: экспериментальные эмбрионы отличались маленькой головой с уменьшенными глазами и недоразвитым задним мозгом, отёчностью

сердца и замедленным сердечным ритмом, согнутым нотохордом и деформациями желточного мешка. Также были рассмотрены уровни экспрессии нескольких генов, связанных с нейрональным развитием, после 24 ч экспозиции НЧ. Уровень экспрессии гена раннего маркера нейрональных клеток HUC (ELAVL3) был заметно снижен при НЧ размером 10 нм, но несколько повышен при НЧ размером 4 нм. Аналогичным образом изменилась экспрессия гена глиального фибриллярного кислого белка GFAP, характерного для астроцитов и признанного одним из ранних маркеров окислительного стресса. Уровни экспрессии гена нейрогена-1 (*NGN1*) — регулятора дифференциации нейронов — оказались повышены по сравнению с контролем. Авторы полагают, что деформации головы эмбриона и недоразвитость глаз были обусловлены нарушениями дифференциации нейрональных клеток, так как не было найдено изменений уровней экспрессии генов *otx* и *rx1*, регулирующих развитие сетчатки. Уровень экспрессии гена металлотионеина был снижен при НЧ размером 4 нм при любых концентрациях НЧ, а в остальных группах при малых концентрациях НЧ или Ag^+ он возрастал, но при увеличении концентрации снижался. В пути воздействия серебра на клетки также были вовлечены АТФ-связывающие кассетные белки-транспортеры (ATP-binding cassette transporters), участвующие в том числе в детоксификации тяжёлых металлов, при этом уровни экспрессии их генов возросли.

Изучено влияние контакта в течение 4–120 ч с момента оплодотворения с НЧ серебра разного размера (10 или 50 нм) и с разным покрытием (PVP, цитрат) [47], а также с Ag^+ , на выживаемость и морфологию эмбрионов данио-рерио. Рассмотрено влияние НЧ и ионов серебра на плавание мальков (возраст 7 сут) и поведенческий ответ рыб на изменения освещённости. НЧ, покрытые цитратом, и ионы вызывали токсические эффекты, в частности задержку вылупления, повышенную смертность и морфологические нарушения. В этом исследовании влияние ионов Ag^+ было выражено сильнее. Мальки, контактировавшие с покрытыми цитратом НЧ, демонстрировали нормальные поведенческие реакции на изменения освещённости, в то время как подвергшиеся воздействию Ag^+ рыбы отличались гиперактивностью при любой освещённости, кроме постоянного яркого света. При этом зрение ни у кого не пострадало, так как изменения в освещённости замечали все рыбы и порог освещённости, запускавший смену поведения, был одинаков для всех особей в каждой части тестирования. Аналогичным образом НЧ, покрытые PVP, не оказали влияния ни на выживаемость, ни на морфологию эмбрионов, что может говорить об ингибировании PVP токсического эффекта НЧ серебра.

Проведено исследование с покрытыми PEG-500 наночастицами серебра и с широким спектром концентраций (от 2,15 нг/мл до 2,15 мг/л) [48]. При этом было обнаружено, что высокие концентрации как НЧ, так и Ag^+ , наоборот, обуславливали подавление локомоторной активности

у мальков, вызвав при этом сходные с предыдущим примером токсические эффекты для эмбриона. Одновременно с этим низкие, сопоставимые с естественными, концентрации Ag^+ вызывали у мальков гиперактивность.

В эксперименте Е.А. González и соавт. [49] рассмотрено влияние именно низких, близких к природным, уровней содержания НЧ серебра (покрытие — альгинат; содержание 0,03; 0,1; 0,3; 1 и 3 ppm) на эмбрионы данио-рерио. Экспонирование составляло 4–120 ч после оплодотворения. При этом не было обнаружено негативных изменений выживаемости, вылупления или морфологии. Однако в возрасте 3 сут рыбы из групп с концентрациями НЧ от 0,3 до 3 ppm были гиперактивны в своих реакциях на изменения освещённости. После 4 сут жизни гиперактивными оставались только представители группы с концентрацией НЧ 3 ppm, а в возрасте 5 сут отклонения от нормы в поведении исчезали у всех экспериментальных особей.

Как видим, результаты исследований разных авторов с эмбрионами данио-рерио и НЧ серебра в некоторой части результатов противоречивы. Вероятно, это связано с тем, что не все методики стандартизированы и не все внешние факторы принимаются во внимание. Не полностью однородны результаты исследований и на грызунах, и с другими типами НЧ. У самок мышей, например, которым во время беременности были сделаны разовые внутривенные инъекции НЧ кремния или TiO_2 , наблюдались осложнения беременности. Размер плода у них был меньше, чем у контрольных животных, и НЧ были обнаружены в плаценте, печени и мозге плода [50]. После многократных подкожных инъекций наночастиц TiO_2 , сделанных беременным мышам, у мышат мужского пола была снижена масса тела, а НЧ обнаружены в черепных нервах и в тестикулах. В образцах мозга были выявлены маркёры апоптоза, наблюдались нарушения структуры тестикул и снижение количества зрелой спермы [51]. В сходных экспериментах были обнаружены маркёры апоптоза в мозге плодов и новорожденных мышат [52], а также уменьшение размера плаценты, плода и анатомические нарушения в мозге и печени плода [53]. При интрагастральном введении наночастиц TiO_2 беременным крысам у потомства обнаруживаются маркёры апоптоза и угнетение нейрогенеза в гиппокампе [18]. У потомства самок, потреблявших с кормом наночастицы ZnO , обнаружены молекулярные свидетельства нарушений в развитии и функционировании печени [54]. В ряде работ показаны нарушения репродуктивной функции у самцов и самок, подвергшихся воздействию наночастиц серебра при однократном пероральном введении (угнетение сперматогенеза, гистопатологические нарушения в яичниках и т.д.). Наличие и характер токсического эффекта в значительной степени зависели от дозы и размера НЧ: чем они меньше, тем менее выражен был эффект [55]. Однако исследователями [56] было обнаружено и подтверждено влияние перорального потребления НЧ серебра на рождаемость

у мышей в виде увеличения количества потомства. Количество потомства у самок и самцов, контактировавших с НЧ серебра с покрытием PVP во время спаривания, беременности и лактации, было примерно вдвое больше, чем в контрольной группе. В случае же использования коллоидного раствора НЧ серебра без покрытия не было замечено изменений в репродуктивной функции у самок мышей [57].

Определённым индикатором влияния НЧ на нервную систему и функцию головного мозга служат изменения в поведении у животных, контактировавших с НЧ. Эти изменения могут наблюдаться также у их потомства, которому НЧ могли передаваться из организма матери в период пренатального развития и/или раннего постнатального развития (во время лактации). Это тоже сегодня является предметом пристальных исследований, чему далее будет посвящён отдельный раздел.

4. МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ НАНОЧАСТИЦ В ТКАНЯХ

Одним из ключевых элементов изучения токсичности НЧ для живых систем является определение их наличия и содержания (уровня накопления) в биологических образцах. Содержание НЧ в таких образцах может быть оценено либо по количеству химического элемента, из которого изготовлены НЧ (если в норме его не должно содержаться в образце), либо по количеству именно НЧ, подсчитанному в образце. Основная проблема заключается в следующем: уровни накопления НЧ в тканях и органах экспериментальных животных могут быть настолько небольшими, что многие лабораторные методы определения содержания веществ, например биохимические, часто неэффективны. Количественная оценка накопления химического элемента НЧ в органах и тканях лабораторных животных может быть стандартно проведена только методами атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-АЭС), масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС), нейтронным активационным анализом (НАА) и рядом других аналогичных методов. Обнаружение же самих НЧ, подсчёт их количества, определение размеров и форм в основном проводится методами электронной микроскопии¹ и динамического рассеяния света (ДРС). Все перечисленные методы обладают как значительными аналитическими возможностями, так и индивидуальными ограничениями.

Атомно-абсорбционная спектроскопия (ААС) является известным одноэлементным методом для точного количественного химического анализа. Метод основан на поглощении электромагнитного излучения

¹ В оптические микроскопы не видно накапливающихся в тканях НЧ, так как размеры НЧ меньше длины волны света.

специфической длины волны атомом в основном состоянии с переходом в возбуждённое состояние. Поглощённая энергия прямо пропорциональна количеству присутствующих атомов. Выделяют 4 основных типа техники атомизации: пламенная атомизация (испарение и атомизация происходят в пламени), электротермическая атомизация (испарение и атомизация пробы происходят в графитовой трубке), гидридная техника (основана на разложении газообразных гидридов в кварцевой ячейке или графитовой печи) и метод «холодного пара» (применяется в основном для определения ртути).

Достоинствами метода являются простота спектров поглощения в сравнении с эмиссионными спектрами, стоимость анализа, простота и быстрота проведения измерений. Существенные ограничения ААС — это неселективное поглощение и матричное подавление при анализе сложных по составу объектов, низкая селективность и недостаточная чувствительность, возможность определения тех элементов, для которых есть в наличии лампы [58, 59]. Пределы обнаружения химических элементов методом ААС зависят от определяемого элемента, матрицы образца и типа прибора. Для приборов в пламенном варианте пределы обнаружения могут варьировать от 0,1 до 100 мкг/л, а в электротермическом — от 0,001 до 0,1 мкг/л.

Атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-АЭС) — это разновидность масс-спектрометрии, отличающаяся высокой чувствительностью, способностью определять до 70 элементов периодической системы Менделеева, низкими пределами обнаружения (до $\sim 10^{-9}$ – 10^{-7} % мас.), высокой стабильностью излучения разряда, быстротой измерений, простотой градуирования [60, 61]. Метод основан на использовании индуктивно-связанной плазмы в качестве источника ионов. Такая плазма представляет собой сильно ионизированный инертный газ (например, аргон) с одинаковым числом электронов и ионов, поддерживаемых радиочастотным полем. Высокая температура, достигнутая в плазме, последовательно превращает в пар и возбуждает атомы испытуемого образца. Количественная оценка в ИСП-АЭС основана на измерении возбуждённых атомов и ионов при длинах волн, характерных для конкретных элементов. Основные ограничения метода ИСП-АЭС связаны с матричным эффектом и интерферирующими воздействиями матричных компонентов проб. К недостаткам методики также можно отнести высокую стоимость оборудования и затраты на его обслуживание [62].

Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС) занимает лидирующее место в определении металлов и металлоидов в различных типах образцов. В основе метода лежит применение аргонной индуктивно-связанной плазмы в качестве источника ионов в сочетании с масс-спектрометром для разделения и последующего детектирования ионов. Основными достоинствами ИСП-МС, как и в случае ИСП-АЭС, являются высокая чувствительность, возможность многоэлементного

анализа, низкие пределы обнаружения (ниже, чем у ИСП-АЭС), высокая точность и широкий линейный диапазон определяемых концентраций, а также возможность определения изотопного состава образца [62]. Например, предел обнаружения для золота составляет 50 мкг/л методом ИСП-АЭС и 0,0005 мкг/л — методом ИСП-МС. Следует отметить, что пределы обнаружения зависят от определяемого элемента и матрицы образца. К недостаткам метода можно отнести стоимость оборудования и газа, необходимость использования нескольких газов высокой чистоты, высокий уровень квалификации персонала, необходимость постоянного контроля интерференций [62–64].

В промышленности нашли применение некоторые разновидности метода ИСП-МС, как, например, СП-ИСП-МС. Эта разновидность позволяет определять размер, распределение по размерам и концентрацию НЧ в суспензиях всего за несколько минут. При использовании метода СП-ИСП-МС сильно разбавленный раствор вводят в спектрометр таким образом, что статистически только одна наночастица в каждый отдельно взятый момент времени попадает в плазму [62, 65]. Сильная сторона методики заключена в том, что для измерений может быть использован стандартный пробир ИСП-МС без технических изменений и дополнительных программ обработки данных. Недостатки метода связаны с отсутствием возможности многоэлементного анализа с использованием традиционных квадрупольных систем ИСП-МС. Точность определения размера частиц сильно зависит от матрицы анализируемого материала и размеров самих частиц [62].

В большинстве случаев объектами анализа в ИСП-МС, ИСП-АЭС и ААС становятся водные растворы. Основными требованиями анализа растворов является полный перевод определяемых элементов в раствор, обеспечение устойчивости растворов и снижение содержания матричных элементов. Не менее важным параметром служит степень чистоты используемых растворов. Стадия химической подготовки проб, которая определяет правильность всего анализа в целом, — самая сложная и продолжительная.

Использование лазерной установки для проведения лазерной абляции в сочетании с ИСП-масс-спектрометром (ЛА-ИСП-МС) позволяет выполнять анализ твёрдых образцов. Метод отличается высокой чувствительностью, точностью и простотой анализа. Система для ЛА-ИСП-МС состоит из импульсного лазерного источника, системы переноса лучей, транспортной линии и детектора ИСП [66, 67]. При этом недостатком метода является необходимость использования при измерении стандартов с той же матрицей, что и анализируемый образец, что не всегда возможно [66].

Другим методом определения элементного состава образцов является **микрорентгеновская флуоресценция** [68], основанная на зависимости интенсивности рентгеновской флуоресценции от концентрации элемента

в образце. При облучении образца мощным потоком рентгеновского излучения возникает характерное флуоресцентное излучение атомов вещества, пропорциональное их концентрации в образце. Метод микрорентгеновской флуоресценции относится к неразрушающим методам анализа, подходит для анализа негетерогенных образцов и требует минимальной подготовки проб. Метод пригоден для определения концентрации элементов с $Z > 11$ [69]. Пределы обнаружения для металлов находятся на уровне 0,05–150,0 мкг/л, погрешность метода составляет 2–9%, а время на анализ не превышает 15 мин.

Перспективным методом является *нейтронный активационный анализ (НАА)*. Это метод и качественно, и количественно определения химических элементов в образцах, основанный на измерении характеристик излучения радионуклидов, образующихся при облучении образцов нейтронами. Метод характеризуется высокой селективностью, точностью, чувствительностью, возможностью одновременного определения большого числа элементов, неразрушающим характером, простотой подготовки проб, возможностью минимизации влияния матричных элементов [70, 71]. Процедура облучения образцов и продолжительность облучения зависят от типа реактора и плотности потока нейтронов. НАА является одним из основных конкурентов ИСП-МС. Однако в отличие от ИСП он не требует перевода образцов в раствор и позволяет работать с образцами, масса которых очень мала (как, например, органы мелких лабораторных животных — мышей, крыс) [72]. Одним из основных недостатков метода является работа с радиоактивными образцами. В НАА, как и в других методах количественного анализа, пределы обнаружения элементов зависят от образца. В случае полимеров пределы обнаружения элементов могут варьировать от 0,004 до 2,500 мкг/г, а в образцах растительного происхождения — от 0,1 до 50,0 мкг/г.

Методы сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) и просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) на протяжении многих лет применяются в исследованиях НЧ [73]. Их в основном используют для определения размеров и форм НЧ, но некоторые приборы снабжены и дополнительными устройствами для элементного анализа. Данные устройства больше подходят для качественного анализа, так как получить точные количественные данные о содержании НЧ с помощью методов электронной микроскопии сложно.

Пространственное разрешение современных методов СЭМ составляет порядка 10 нм, а в усовершенствованных версиях может достигать 2,5 нм, максимальное увеличение составляет $\times 10^6$. В типичном сканирующем электронном микроскопе пучок электронов с энергией от нескольких сотен эВ до 50 кэВ фокусируется на поверхности образца в очень маленькое пятно диаметром примерно 5 нм, которое сканирует поверхность с помощью системы отклоняющих катушек. При столкновении электронов

с атомами материала имеет место эмиссия электронов и фотонов из образца. При попадании эмитированных электронов в катодно-лучевую трубку в ней формируются СЭМ-изображения, представляющие информацию о морфологии поверхности образца [74].

Одним из наиболее эффективных методов структурных исследований материалов, в том числе наноматериалов, является ПЭМ, которая позволяет получить изображения с высоким разрешением, вплоть до атомарного, а также информацию о химическом составе материала. Типовая установка ПЭМ состоит из вакуумной системы, источника электронов, серии электромагнитных линз, устройства формирования изображения, а также устройства ввода-вывода и перемещения образца под электронным пучком [75]. Высокоэнергичный пучок электронов проходит через тонкий образец, взаимодействует с ним и трансформируется в неупругорассеянные и упругорассеянные электроны, которые фокусируются на устройстве формирования изображения: флуоресцентном экране, фотопластинке или ПЗС-сенсоре. Как сканирующая, так и просвечивающая электронная микроскопия дают информацию о размерах, степени агрегации, дисперсии и гетерогенности наноматериалов. Однако разрешение ПЭМ в разы превышает разрешение СЭМ. В просвечивающем электронном микроскопе ускоряющее напряжение прямо пропорционально его пространственному разрешению. Так, при ускоряющем напряжении 400 кВ теоретический предел разрешения ПЭМ составляет менее 0,2 нм. Увеличение варьирует в пределах от 50 до 10^6 . ПЭМ позволяет определить точный размер частиц как для изображений, полученных методом яркого поля, так и для изображений, полученных методом темного поля, а также содержит информацию о морфологии образца, его составе и кристаллографической структуре [75].

Для определения размеров НЧ в растворе также активно используется *метод динамического рассеяния света (ДРС)*. Метод основан на анализе флуктуаций интенсивности светорассеяния, которые содержат информацию о пространственной динамике рассеивателей и временных флуктуациях их индивидуальных оптических свойств [11]. В случае монодисперсного раствора размеры частиц можно определить достаточно точно. Если же в растворе присутствуют несколько видов частиц и их размеры отличаются в несколько раз, точность их определения значительно уменьшается. Данный метод позволяет измерять размеры частиц от 0,5–1,0 нм до 5–6 мкм. При сравнении методов ДРС и ПЭМ показано, что для растворов, содержащих НЧ в неагрегированном состоянии, размеры частиц, полученные двумя методами, не сильно различались. В то же время для агрегированных частиц ПЭМ дает более точные размеры [75].

В целом выбор методики анализа наличия НЧ и их количественного содержания в биологических образцах зависит от задач исследования и возможностей научного коллектива.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFORMATION

Вклад авторов. Наибольший вклад распределён следующим образом: А.Л. Ивлиева — сбор и анализ источников литературы, подготовка рукописи; И. Зиньковская — подготовка раздела о методах детекции и количественного анализа наночастиц, участие в подготовке рукописи; Е.Н. Петрицкая — дизайн статьи, анализ литературных данных, участие в утверждении окончательного варианта рукописи; Д.А. Рогаткин — концепция обзора, анализ данных, подготовка первого варианта рукописи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Author contribution. The greatest contribution is distributed as follows: A.L. Ivlieva — collection and analysis of literature sources, preparation of the manuscript; I. Zinikovskaya — preparation of a section on methods of detection and quantitative analysis of nanoparticles, participation in the preparation of the manuscript; E.N. Petriskaya — article design, analysis of literary data, participation in the approval of the final version of the manuscript; D.A. Rogatkin — the concept of the review, data analysis, preparation of the first version of the manuscript. All authors confirm that their authorship meets the international ICMJE criteria (all authors have made a significant contribution to the development of the concept and preparation of the article, read and approved the final version before publication).

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Competing interests. The authors declares that there are no obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тригуб А.Г. Влияние коллоидного наносеребра на пресноводные и морские планктонные организмы. В кн.: Под общ. ред. М.Г. Петровой. Теоретические и прикладные аспекты современной науки : сборник научных трудов по материалам VI Международной научно-практической конференции. Часть I. Белгород : ИП Петрова М.Г., 2015. С. 123–135.
2. OECD Guidelines for the testing of chemicals: Daphnia sp. [Интернет]. Доступ по ссылке: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals_72d77764-en (дата обращения: 22.01.2021).
3. Asghari S., Johari S.A., Lee J.H., et al. Toxicity of various silver nanoparticles compared to silver ions in *Daphnia magna* // *Journal of Nanobiotechnology*. 2012. Vol. 10. N 14. doi: 10.1186/1477-3155-10-14
4. Pokhrel L.K., Dubey B. Potential impact of low-concentration silver nanoparticles on predator-prey interactions between predatory dragonfly nymphs and *Daphnia magna* as a prey // *Environmental Science and Technology*. 2012. Vol. 46. N 46. P. 7755–7762. doi: 10.1021/es204055c
5. Joo H.S., Kalbassi M.R., Yu I.J., et al. Bioaccumulation of silver nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): influence of concentration and salinity // *Aquatic Toxicology*. 2013. Vol. 140–141. P. 398–406. doi: 10.1016/j.aquatox.2013.07.003
6. Bertrand C., Zalouk-Vergnoux A., Giambérini L., et al. The influence of salinity on the fate and behavior of silver standardized nanomaterial and toxicity effects in the estuarine bivalve *Scrobicularia plana* // *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2016. Vol. 35, N 10. P. 2550–2561. doi: 10.1002/etc.3428
7. Yang X., Jiang C., Hsu-Kim H., et al. Silver nanoparticle behavior, uptake, and toxicity in *Caenorhabditis elegans*: effects of natural organic matter // *Environmental Science and Technology*. 2014. N 48. P. 3486–3495. doi: 10.1021/es404444n
8. Garcia-Reyero N., Kennedy A.J., Escalon B.L., et al. Differential effects and potential adverse outcomes of ionic silver and silver nanoparticles in vivo and in vitro // *Environmental Science and Technology*. 2014. N 48. P. 4546–4555. doi: 10.1021/es4042258
9. Rui Qi, Zhao Y., Wub Q., et al. Biosafety assessment of titanium dioxide nanoparticles in acutely exposed nematode *Caenorhabditis elegans* with mutations of genes required for oxidative stress or stress response // *Chemosphere*. 2013. Vol. 93, N 10. P. 2289–2296. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.08.007
10. Lewinski N., Colvin V., Drezek R. Cytotoxicity of nanoparticles // *Small*. 2008. Vol. 4, N 1. P. 26–49. doi: 10.1002/sml.200700595
11. Rodriguez-Garraus A., Azqueta A., Vettorazzi A., de Cerain A.L. Genotoxicity of silver nanoparticles // *Nanomaterials*. 2020. N 10. P. 251. doi: 10.3390/nano10020251
12. Yin N., Hu B., Yang R., et al. Assessment of the developmental neurotoxicity of silver nanoparticles and silver ions with mouse embryonic stem cells in vitro // *Journal of Interdisciplinary Nanomedicine*. 2018. Vol. 3, N 3. P. 133–145. doi: 10.1002/jin2.49
13. Huang C.-L., Hsiao I.-L., Lin H.-C., et al. Silver nanoparticles affect on gene expression of inflammatory and neurodegenerative responses in mouse brain neural cells // *Environmental Research*. 2015. Vol. 136. P. 253–263. doi: 10.1016/j.envres.2014.11.006
14. Кукла С.П., Слободскова В.В., Челомин В.П. Генотоксическое воздействие наночастиц диоксида титана на двустворчатого моллюска *Mytilus trossulus* (Gould, 1850) в морской среде // *Морской биологический журнал*. 2018. Т. 3, № 4. С. 43–50. doi: 10.21072/mbj.2018.03.4.05
15. Hu R., Zheng L., Zhang T., et al. Molecular mechanism of hippocampal apoptosis of mice following exposure to titanium dioxide nanoparticles // *Journal of Hazard Materials*. 2011. Vol. 191. N 1–3. P. 32–40. doi: 10.1016/j.jhazmat.2011.04.027
16. Krawczynska A., Dziendzikowska K., Gromadzka-Ostrowska J., et al. Silver and titanium dioxide nanoparticles alter oxidative/inflammatory response and renin-angiotensin system in

- brain // *Food and Chemical Toxicology*. 2015. Vol. 85. P. 96–105. doi: 10.1016/j.fct.2015.08.005
17. Сулункова М.П., Макеев О.Г., Привалова Л.И., и др. Генотоксический эффект воздействия некоторых элементарных или элементарнооксидных наночастиц и его ослабление комплексом биопротекторов // *Медицина труда и промышленная экология*. 2018. № 11. С. 10–16. doi: 10.31089/1026-9428-2018-11-10-16
18. Bideskan A.E., Mohammadipour A., Fazel A., et al. Exposure to titanium dioxide nanoparticles during pregnancy and lactation alters offspring hippocampal mRNA BAX and Bcl-2 levels, induces apoptosis and decreases neurogenesis // *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2017. Vol. 69, N 6. P. 329–337. doi: 10.1016/j.etp.2017.02.006
19. Kim S., Ryu D.Y. Silver nanoparticle-induced oxidative stress, genotoxicity and apoptosis in cultured cells and animal tissues // *Journal of Applied Toxicology*. 2013. Vol. 33, N 2. P. 78–89. doi: 10.1002/jat.2792
20. Dabrowska-Bouta B., Zieba M., Orzelska-Gorka J., et al. Influence of a low dose of silver nanoparticles on cerebral myelin and behavior of adult rats // *Toxicology*. 2016. Vol. 363–364. P. 29–36. doi: 10.1016/j.tox.2016.07.007
21. Zhou Y., Hong F., Tian Y., et al. Nanoparticulate titanium dioxide-inhibited dendritic development is involved in apoptosis and autophagy of hippocampal neurons in offspring mice // *Toxicology Research*. 2017. Vol. 6, N 6. P. 889–901. doi: 10.1039/c7tx00153c
22. Grissa I., El Ghou J., Mrimi R., et al. In deep evaluation of the neurotoxicity of orally administered TiO₂ nanoparticles // *Brain Research Bulletin*. 2019. Vol. 155. P. 119–128. doi: 10.1016/j.brainresbull.2019.10.005
23. Джумагазиева Д.С., Маслякова Г.Н., Сулейманова Л.В. Исследование мутагенного действия золотых наночастиц в микроядерном тесте // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2011. Т. 151, № 6. С. 677–680. doi: 10.1007/s10517-011-1427-4
24. Прохорова И.М., Кибрик Б.С., Павлов А.В., Песня Д.С. Оценка мутагенного и митозмодифицирующего действия наночастиц серебра // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2013. Т. 156, № 8. С. 223–228. doi: 10.1007/s10517-013-2325-8
25. Пятница-Горпинченко Н.К. Асбест и волокнистый канцерогенез // *Environment & Health*. 2014. №1. С. 4–9.
26. Butler K.S., Peeler D.J., Casey B.J., et al. Silver nanoparticles: correlating nanoparticles size and cellular uptake with genotoxicity // *Mutagenesis*. 2015. Vol. 30, N 4. P. 577–591. doi: 10.1093/mutage/gev020
27. George J.M., Magogoty M., Vetten M.V., et al. An investigation of the genotoxicity and interference of gold nanoparticles in commonly used in vitro mutagenicity and genotoxicity assays // *Toxicological Sciences*. 2017. Vol. 156, N 1. P. 149–166. doi: 10.1093/toxsci/kfw247
28. Guo X., Li Y., Yan J., et al. Size and coating-dependent cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles evaluated using in vitro standard assays // *Nanotoxicology*. 2016. Vol. 10, N 9. P. 1373–1384. doi: 10.1080/17435390.2016.1214764
29. Li Y., Chen D.H., Yan J., Chen Y., et al. Genotoxicity of silver nanoparticles evaluated using the Ames test and in vitro micronucleus assay // *Mutation Research*. 2012. Vol. 745, N 1–2. P. 4–10. doi: 10.1016/j.mrgentox.2011.11.010
30. Chen E.Y. Garnica M., Wang Y.-C., et al. A mixture of anatase and rutile TiO₂ nanoparticles induces histamine secretion in mast cells // *Particle and Fibre Toxicology*. 2012. Vol. 9, N 2. doi: 10.1186/1743-8977-9-2
31. Ivask A., Bondarenko O., Jepihina N., Kahru A. Profiling of the reactive oxygen species-related ecotoxicity of CuO, ZnO, TiO₂, silver and fullerene nanoparticles using a set of recombinant luminescent *Escherichia coli* strains: differentiating the impact of particles and solubilised metals // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2010. Vol. 398, N 2. P. 701–716. doi: 10.1007/s00216-010-3962-7
32. Xiong S., George S., Ji J., et al. Size of TiO₂ nanoparticles influences their phototoxicity: an in vitro investigation // *Archives of Toxicology*. 2013. Vol. 87, N 1. P. 99–109. doi: 10.1007/s00204-012-0912-5
33. Сарапульцев А.П., Ремпель С.В., Кузнецова Ю.В., Сарапульцев Г.П. Взаимодействие наночастиц с биологическими объектами // *Вестник уральской медицинской академической науки*. 2016. №3. С. 97–111. doi: 10.22138/2500-0918-2016-15-3-97-111
34. Леоненко Н.С., Леоненко О.Б. Факторы, влияющие на проявление токсичности и опасности наноматериалов // *Innovative Biosystems and Bioengineering*. 2020. Vol. 4, N 2. С. 75–88. doi: 10.20535/ibb.2020.4.2.192810
35. Румянцев К.А., Шеметов А.А., Набиев И.Р., Суханова А.В. Взаимодействие белков и пептидов с наночастицами. Структурные и функциональные аспекты // *Российские нанотехнологии*. 2013. Т. 8. №11–12. С. 18–34.
36. Ткаченко Т.В., Безрядина А.С. Наночастицы как актуальное направление исследований // *Международный студенческий научный вестник*. 2017. № 4–5. С. 619–621.
37. Brun E., Sanche L., Sicard-Roselli C. Parameters governing gold nanoparticle X-ray radiosensitization of DNA in solution // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2009. Vol. 72, N 1. P. 128–134. doi: 10.1016/j.colsurfb.2009.03.025
38. Massarsky A., Dupuis L., Taylor J., et al. Assessment of nano-silver toxicity during zebrafish (*Danio rerio*) development // *Chemosphere*. 2013. N 92. P. 59–66. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.02.060
39. Moradi-Sardareh H., Basir H.R.G., Hassan Z.M., et al. Toxicity of silver nanoparticles on different tissues of Balb/C mice // *Life Sciences*. 2018. Vol. 211. P. 81–90. doi: 10.1016/j.lfs.2018.09.001
40. Greish K., Alqahtani A.A., Alotaibi A.F., et al. The effect of silver nanoparticles on learning, memory and social interaction in BALB/C mice // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2019. Vol. 16, N 1. P. 148. doi: 10.3390/ijerph16010148
41. Tabatabaei S.R.F., Moshrefi M., Askaripour M. Prenatal exposure to silver nanoparticles causes depression like responses in mice // *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015. Vol. 77, N 6. P. 681–686.
42. Dănilă O.O., Berghian A.S., Dionisie V., et al. The effects of silver nanoparticles on behavior, apoptosis and nitro-oxidative stress in offspring Wistar rats // *Nanomedicine (Lond)*. 2017. Vol. 12, N 12. P. 1455–1473. doi: 10.2217/nmm-2017-0029

43. Hadrup N., Sharma A.K., Loeschner K. Toxicity of silver ions, metallic silver, and silver nanoparticle materials after in vivo dermal and mucosal surface exposure: a review // *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2018. Vol. 98. P. 257–267. doi: 10.1016/j.yrtph.2018.08.007
44. Warheit D.B., Brown S.C., Donner E.M. Acute and subchronic oral toxicity studies in rats with nanoscale and pigment grade titanium dioxide particles // *Food and Chemical Toxicology*. 2015. Vol. 84. P. 208–224. doi: 10.1016/j.fct.2015.08.026
45. Park K., Tuttle G., Sinche F., Harper S.L. Stability of citrate-capped silver nanoparticles in exposure media and their effects on the development of embryonic zebrafish (*Danio rerio*) // *Archives of Pharmacal Research*. 2013. Vol. 36. P. 125–133. doi: 10.1007/s12272-013-0005-x
46. Xin Q., Rotchell J.M., Cheng J., et al. Silver nanoparticles affect the neural development of zebrafish embryos // *Journal of Applied Toxicology*. 2015. Vol. 35. P. 1481–1492. doi: 10.1002/jat.3164
47. Powers C.M., Slotkin T.A., Seidler F.J., et al. Silver nanoparticles alter zebrafish development and larval behavior: distinct roles for particle size, coating and composition // *Neurotoxicology and Teratology*. 2011. Vol. 33, N 6. P. 708–714. doi: 10.1016/j.ntt.2011.02.002
48. Asmonaite G., Boyer S., de Souza K.B., et al. Behavioural toxicity assessment of silver ions and nanoparticles on zebrafish using a locomotion profiling approach // *Aquatic Toxicology*. 2016. Vol. 173. P. 143–153. doi: 10.1016/j.aquatox.2016.01.013
49. González E.A., Carty D.R., Tran F.D., et al. Developmental exposure to silver nanoparticles at environmentally relevant concentrations alters swimming behavior in zebrafish (*Danio rerio*) // *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2018. Vol. 37, N 12. P. 3018–3024. doi: 10.1002/etc.4275.
50. Yamashita K., Yoshioka Ya., Higashisaka K., et al. Silica and titanium dioxide nanoparticles cause pregnancy complications in mice // *Nature Nanotechnology*. 2011. Vol. 6, N 5. P. 321–328. doi: 10.1038/NNANO.2011.41
51. Takeda K., Suzuki K., Ishihara A., et al. Nanoparticles transferred from pregnant mice to their offspring can damage the genital and cranial nerve systems // *Journal of Health Science*. 2009. Vol. 55, N 1. P. 95–102. doi: 10.1248/jhs.55.95
52. Shimizu M., Tainaka H., Oba T., et al. Maternal exposure to nanoparticulate titanium dioxide during the prenatal period alters gene expression related to brain development in the mouse // *Particle and Fibre Toxicology*. 2009. Vol. 6, N 1. P. 20. doi: 10.1186/1743-8977-6-20
53. Naserzadeh P., Ghanbary F., Ashtari P., et al. Biocompatibility assessment of titanium dioxide nanoparticles in mice fetoplacental unit // *Journal of Biomedical Materials Research: Part A*. 2018. Vol. 106, N 2. P. 580–589. doi: 10.1002/jbm.a.36221
54. Hao Y., Liu J., Feng Y., et al. Molecular evidence of offspring liver dysfunction after maternal exposure to zinc oxide nanoparticles // *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2017. Vol. 329. P. 318–325. doi: 10.1016/j.taap.2017.06.021
55. Ema M., Okuda H., Gamo M., Honda K. A review of reproductive and developmental toxicity of silver nanoparticles in laboratory animals // *Reproductive Toxicology*. 2017. Vol. 67. P. 149–164. doi: 10.1016/j.reprotox.2017.01.005.
56. Зиньковская И., Ивлиева А.Л., Петрицкая Е.Н., Рогаткин Д.А. Неожиданный эффект длительного перорального приема наночастиц серебра на рождаемость у мышей // *Экология человека*. 2020. № 10. С. 23–30. doi: 10.33396/1728-0869-2020-10-23-30
57. Петрицкая Е.Н., Абаева Л.Ф., Рогаткин Д.А., и др. К вопросу о токсичности наночастиц серебра при пероральном введении коллоидного раствора // *Альманах клинической медицины*. 2011. № 25. С. 9–12.
58. Бейзель Н.Ф. Атомно-абсорбционная спектрометрия: учебное пособие // Новосибирск : Новосибирский государственный университет, 2008.
59. Ha Y., Tsay O.G., Churchill D.G. A tutorial and mini-review of the ICP-MS technique for determinations of transition metal ion and main group element concentration in the neurodegenerative and brain sciences // *Monatshefte für Chemie — Chemical Monthly*. 2011. Vol. 142. P. 385–398. doi: 10.1007/s00706-010-0438-6
60. Евдокимов И.И., Пименов В.Г., Фадеева Д.А. АЭС-ИСП анализ высокочистого мышьяка // *Аналитика и контроль*. 2015. Т. 19, № 1. С. 13–20. doi: 10.15826/analitika.2015.19.1.006
61. Пупышев А.А., Данилова Д.А. Использование атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой для анализа материалов и продуктов черной металлургии // *Аналитика и контроль*. 2007. № 11(2-3). С. 131–181.
62. Meermann B., Nischwitz V. ICP-MS for the analysis at the nanoscale — a tutorial review // *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2018. Vol. 33, № 9. P. 1432–1468. doi: 10.1039/C8JA00037A
63. Pröfrock D., Prange A. Inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) for quantitative analysis in environmental and life sciences: a review of challenges, solutions, and trends // *Applied Spectroscopy*. 2012. Vol. 66, N 8. P. 843–868. doi: 10.1366/12-06681
64. Wilschefski S.C., Baxter M.R. Inductively coupled plasma mass spectrometry: introduction to analytical aspects // *The Clinical Biochemist Reviews*. 2019. Vol. 40, N 3. P. 115–133. doi: 10.33176/AACB-19-00024.
65. Mozhayeva D., Engelhard C. A critical review of single particle inductively coupled plasma mass spectrometry — a step towards an ideal method for nanomaterial characterization // *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2020. N 35. P. 1740–783. doi: 10.1039/C9JA00206E
66. Николаева И.В., Палесский С.В., Карпов А.В. Сравнение ИСП/МС анализа геологических образцов в варианте растворов и лазерной абляции стекол // *Известия Томского политехнического университета. Инжиниринг георесурсов*. 2019. Т. 330, № 5. С. 26–34. doi: 10.18799/24131830/2019/5/263
67. Koch J., Günther D. Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Encyclopedia of spectroscopy and spectrometry*. 3d ed. Lindon J., Tranter G.E., Koppenaal D., editors. Oxford : Academic Press, 2017.
68. Haschke M. *Laboratory micro-X-ray fluorescence spectroscopy. Instrumentation and applications*. London : Springer Publ., 2013.
69. Veith L., Dietrich D., Vennemann A., Breitenstein D., Engelhard C., Karst U., et al. Combination of micro X-ray fluorescence spectroscopy and time-of-flight secondary ion mass spectrometry

imaging for the marker-free detection of CeO₂ nanoparticles in tissue sections // *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2018. Vol. 33, P. 491–501. doi: 10.1039/C7JA00325K

70. Bode P., Greenberg R.R., De Nadai Fernandes E.A. Neutron activation analysis: a primary (ratio) method to determine Si- traceable values of element content in complex samples // *CHIMIA International Journal for Chemistry*. 2009. Vol. 63, N 10, P. 678–680. doi: 10.2533/chimia.2009.678

71. Frontasyeva M.V. Neutron activation analysis in the life sciences // *Physics of Particles and Nuclei*. 2011. Vol. 42, N 2, P. 332–378. doi: 10.1134/S1063779611020043

72. Zinicovscaia I., Grozdov D., Yushin N., et al. Neutron activation analysis as a tool for tracing the accumulation of silver nanopar-

ticles in tissues of female mice and their offspring // *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 2019. Vol. 322, P. 1079–1083. doi: 10.1007/s10967-019-06746-9.

73. Sun D., Siddiqui M.O.R., Iqbal K. Specialty testing techniques for smart textiles. 2nd ed. In: Smith W., editor. *Smart textile coatings and laminates*. Woodhead Publishing, 2018. P. 99–116.

74. Pinto A.M.F.R., Oliveira V.B., Falcão D. *Direct alcohol fuel cells for portable applications fundamentals*. Engineering and advances. London : Academic Press Publ., 2018.

75. Raval N., Maheshwari R., Kalyane D., et al. Importance of physicochemical characterization of nanoparticles in pharmaceutical product development. *Basic fundamentals of drug delivery*. Tekade R., editor. London : Academic Press, 2019.

REFERENCES

1. Trigub AG. Influence of colloidal nanosilver on freshwater and marine planktonic organisms. In: Petrova MG, editor. *Theoretical and applied aspects of modern science: collection of scientific papers based on the materials of the VI International scientific and practical conference*. Belgorod: IE Petrova MG Publ.; 2015:123–135.

2. *OECD Guidelines for the testing of chemicals : Daphnia sp.* [Internet] Available from: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals_72d77764-en (accessed: 22.01.2021).

3. Asghari S, Johari SA, Lee JH, et al. Toxicity of various silver nanoparticles compared to silver ions in *Daphnia magna*. *Journal of Nanobiotechnology*. 2012;10:14. doi: 10.1186/1477-3155-10-14

4. Pokhrel LK, Dubey B. Potential impact of low-concentration silver nanoparticles on predator–prey interactions between predatory dragonfly nymphs and *Daphnia magna* as a prey. *Environmental Science and Technology*. 2012;46:7755–7762. doi: 10.1021/es204055c

5. Joo HS, Kalbassi MR, Yu IJ, et al. Bioaccumulation of silver nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): influence of concentration and salinity. *Aquatic Toxicology*. 2013;140–141:398–406. doi: 10.1016/j.aquatox.2013.07.003

6. Bertrand C, Zalouk-Vergnoux A, Giambérini L, et al. The influence of salinity on the fate and behavior of silver standardized nanomaterial and toxicity effects in the estuarine bivalve *Scrobicularia plana*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2016;35(10):2550–2561. doi: 10.1002/etc.3428

7. Yang X, Jiang C, Hsu-Kim H, et al. Silver nanoparticle behavior, uptake, and toxicity in *Caenorhabditis elegans*: effects of natural organic matter. *Environmental Science and Technology*. 2014;48:3486–3495. doi: 10.1021/es404444n

8. Garcia-Reyero N, Kennedy AJ, Escalon BL, et al. Differential effects and potential adverse outcomes of ionic silver and silver nanoparticles *in vivo* and *in vitro*. *Environmental Science and Technology*. 2014;48:4546–4555. doi: 10.1021/es4042258

9. Rui Qi, Zhao Y, Wub Q, et al. Biosafety assessment of titanium dioxide nanoparticles in acutely exposed nematode *Caenorhabditis elegans* with mutations of genes required for oxidative stress or stress response. *Chemosphere*. 2013;93(10):2289–2296. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.08.007

10. Lewinski N, Colvin V, Drezek R. Cytotoxicity of nanoparticles. *Small*. 2008;4(1):26–49. doi: 10.1002/smll.200700595

11. Rodriguez-Garraus A, Azqueta A, Vettorazzi A, de Cerain AL. Genotoxicity of silver nanoparticles. *Nanomaterials*. 2020;10:251. doi: 10.3390/nano10020251

12. Yin N, Hu B, Yang R, et al. Assessment of the developmental neurotoxicity of silver nanoparticles and silver ions with mouse embryonic stem cells *in vitro*. *Journal of Interdisciplinary Nanomedicine*. 2018;3(3):133–145. doi: 10.1002/jin2.49

13. Huang CL, Hsiao IL, Lin HC, et al. Silver nanoparticles affect on gene expression of inflammatory and neurodegenerative responses in mouse brain neural cells. *Environmental Research*. 2015;136:253–263. doi: 10.1016/j.envres.2014.11.006

14. Kukla SP, Slobodskova VV, Chelomin VP. Genotoxic effect of titanium dioxide nanoparticles on the bivalve mollusk *Mytilus trossulus* (Gould, 1850) in the marine environment. *Marine Biology Journal*. 2018;3(4):43–50. doi: 10.21072/mbj.2018.03.4.05

15. Hu R, Zheng L, Zhang T, et al. Molecular mechanism of hippocampal apoptosis of mice following exposure to titanium dioxide nanoparticles. *Journal of Hazard Materials*. 2011;191:32–40. doi: 10.1016/j.jhazmat.2011.04.027

16. Krawczynska A, Dziendzikowska K, Gromadzka-Ostrowska J, et al. Silver and titanium dioxide nanoparticles alter oxidative/inflammatory response and renine-angiotensin system in brain. *Food and Chemical Toxicology*. 2015;85:96–105. doi: 10.1016/j.fct.2015.08.005

17. Sutunkova MP, Makeev OG, Privalova LI, et al. Genotoxic effect of some elemental or element oxide nanoparticles and its diminution by bioprotectors combination. *Russian Journal of Occupational Health and Industrial Ecology*. 2018;11:10–16. doi: 10.31089/1026-9428-2018-11-10-16

18. Bideskan AE, Mohammadipour A, Fazel A, et al. Exposure to titanium dioxide nanoparticles during pregnancy and lactation alters offspring hippocampal mRNA BAX and Bcl-2 levels, induces apoptosis and decreases neurogenesis. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2017;69(6):329–337. doi: 10.1016/j.etp.2017.02.006

19. Kim S, Ryu DY. Silver nanoparticle-induced oxidative stress, genotoxicity and apoptosis in cultured cells and animal tissues. *Journal of Applied Toxicology*. 2013;33(2):78–89. doi: 10.1002/jat.2792

20. Dabrowska-Bouta B, Zieba M, Orzelska-Gorka J, et al. Influence of a low dose of silver nanoparticles on cerebral myelin and be-

- havior of adult rats. *Toxicology*. 2016;363–364:29–36. doi: 10.1016/j.tox.2016.07.007
21. Zhou Y, Hong F, Tian Y, et al. Nanoparticulate titanium dioxide-inhibited dendritic development is involved in apoptosis and autophagy of hippocampal neurons in offspring mice. *Toxicology Research*. 2017;6(6):889–901. doi: 10.1039/c7tx00153c
 22. Grissa I, ElGhoul J, Mrimi R, et al. In deep evaluation of the neurotoxicity of orally administered TiO₂ nanoparticles. *Brain Research Bulletin*. 2019;155:119–128. doi: 10.1016/j.brainresbull.2019.10.005
 23. Jumagazieva DS, Maslyakova GN, Suleymanova LV, Bucharskaya AB, Firsova SS, Khlebtsov BN, et al. Mutagenic effect of gold nanoparticles in the micronucleus assay. *Bull Exp Biol Med*. 2011;151(6):731–3. doi: 10.1007/s10517-011-1427-4
 24. Prokhorova IM, Kibrik BS, Pavlov AV, Pesnya DS. Estimation of mutagenic effect and modifications of mitosis by silver nanoparticles. *Bull Exp Biol Med*. 2013;156(2):255–259. DOI: 10.1007/s10517-013-2325-8
 25. Pyatnitsa-Gorpinchenko NK. Asbestos and fibrous carcinogenesis. *Environment & Health*. 2014;1:4–9.
 26. Butler KS, Peeler DJ, Casey BJ, et al. Silver nanoparticles: correlating nanoparticles size and cellular uptake with genotoxicity. *Mutagenesis*. 2015;30:577–591. doi: 10.1093/mutage/gev020
 27. George JM, Magogoty M, Vetten MV, et al. An investigation of the genotoxicity and interference of gold nanoparticles in commonly used in vitro mutagenicity and genotoxicity assays. *Toxicological Sciences*. 2017;156(1):149–166. doi: 10.1093/toxsci/kfw247
 28. Guo X, Li Y, Yan J, et al. Size and coating-dependent cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles evaluated using in vitro standard assays. *Nanotoxicology*. 2016;10(9):1373–1384. doi: 10.1080/17435390.2016.1214764
 29. Li Y, Chen DH, Yan J, et al. Genotoxicity of silver nanoparticles evaluated using the Ames test and in vitro micronucleus assay. *Mutation Research*. 2012;745:4–10. doi: 10.1016/j.mrgentox.2011.11.010
 30. Chen EY, Garnica M, Wang YC, et al. A mixture of anatase and rutile TiO₂ nanoparticles induces histamine secretion in mast cells. *Particle and Fibre Toxicology*. 2012;9:2. doi: 10.1186/1743-8977-9-2
 31. Ivask A, Bondarenko O, Jephthina N, Kahru A. Profiling of the reactive oxygen species-related ecotoxicity of CuO, ZnO, TiO₂, silver and fullerene nanoparticles using a set of recombinant luminescent Escherichia coli strains: differentiating the impact of particles and solubilised metals. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2010;398(2):701–716. doi: 10.1007/s00216-010-3962-7
 32. Xiong S, George S, Ji J, et al. Size of TiO₂ nanoparticles influences their phototoxicity: an in vitro investigation. *Archives of Toxicology*. 2013;87(1):99–109. doi: 10.1007/s00204-012-0912-5
 33. Sarapul'tsev AP, Rempel' SV, Kuznetsova YuV, Sarapul'tsev GP. Interaction of nanoparticles with biological objects. *Journal of Ural Medical Academic Science*. 2016;3:97–111. doi: 10.22138/2500-0918-2016-15-3-97-111
 34. Leonenko NS, Leonenko OB. Factors influencing the manifestation of toxicity and hazards of nanomaterials. *Innovative Biosystems and Bioengineering*. 2020;4(2):75–88. doi: 10.20535/ibb.2020.4.2.192810
 35. Romyantsev KA, Shemetov AA, Nabiev IR, Sukhanova AV. Interaction of proteins and peptides with nanoparticles. Structural and functional aspects. *Rossiiskie nanotekhnologii* [Russian nanotechnologies]. 2013;8(11-12):18-34.
 36. Tkachenko TV, Bezryadina AS. Nanoparticles as an actual area of research. *Mezhdunarodnyi studencheskii nauchnyi vestnik* [International student scientific bulletin]. 2017;4-5:619–621.
 37. Brun E, Sanche L, Sicard-Roselli C. Parameters governing gold nanoparticle X-ray radiosensitization of DNA in solution. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2009;72(1):128–134. doi: 10.1016/j.colsurfb.2009.03.025
 38. Massarsky A, Dupuis L, Taylor J, et al. Assessment of nanosilver toxicity during zebrafish (Danio rerio) development. *Chemosphere*. 2013;92:59–66. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.02.060
 39. Moradi-Sardareh H, Basir HRG, Hassan ZM, et al. Toxicity of silver nanoparticles on different tissues of Balb/C mice. *Life Sciences*. 2018;211:81–90. doi: 10.1016/j.lfs.2018.09.001
 40. Greish K, Alqahtani AA, Alotaibi AF, et al. The effect of silver nanoparticles on learning, memory and social interaction in BALB/C mice. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2019;16(1):148. doi: 10.3390/ijerph16010148
 41. Tabatabaei SRF, Moshrefi M, Askaripour M. Prenatal exposure to silver nanoparticles causes depression like responses in mice. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015;77(6):681–686.
 42. Dănilă OO, Berghian AS, Dionisie V, et al. The effects of silver nanoparticles on behavior, apoptosis and nitro-oxidative stress in offspring Wistar rats. *Nanomedicine (Lond)*. 2017;12(12):1455–1473. doi: 10.2217/nmm-2017-0029
 43. Hadrup N, Sharma AK, Loeschner K. Toxicity of silver ions, metallic silver, and silver nanoparticle materials after in vivo dermal and mucosal surface exposure: a review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2018;98:257–267. doi: 10.1016/j.yrtph.2018.08.007
 44. Warheit DB, Brown SC, Donner EM. Acute and subchronic oral toxicity studies in rats with nanoscale and pigment grade titanium dioxide particles. *Food and Chemical Toxicology*. 2015;84:208–224. doi:10.1016/j.fct.2015.08.026
 45. Park K, Tuttle G, Sinche F, Harper SL. Stability of citrate-capped silver nanoparticles in exposure media and their effects on the development of embryonic zebrafish (Danio rerio). *Archives of Pharmacol Research*. 2013;36:125–133. doi: 10.1007/s12272-013-0005-x
 46. Xin Qi, Rotchell JM, Cheng J, et al. Silver nanoparticles affect the neural development of zebrafish embryos. *Journal of Applied Toxicology*. 2015;35:1481–1492. doi: 10.1002/jat.3164
 47. Powers CM, Slotkin TA, Seidler FJ, et al. Silver nanoparticles alter zebrafish development and larval behavior: distinct roles for particle size, coating and composition. *Neurotoxicology and Teratology*. 2011;33(6):708–714. doi: 10.1016/j.ntt.2011.02.002
 48. Asmonaite G, Boyer S, de Souza KB, et al. Behavioural toxicity assessment of silver ions and nanoparticles on zebrafish using a locomotion profiling approach. *Aquatic Toxicology*. 2016;173:143–153. doi: 10.1016/j.aquatox.2016.01.013
 49. González EA, Carty DR, Tran FD, et al. Developmental exposure to silver nanoparticles at environmentally relevant concentrations alters swimming behavior in zebrafish (Danio rerio). *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2018;37(12):3018–3024. doi: 10.1002/etc.4275

50. Yamashita K, Yoshioka Ya, Higashisaka K, et al. Silica and titanium dioxide nanoparticles cause pregnancy complications in mice. *Nature Nanotechnology*. 2011;6:321–328. doi: 10.1038/NNANO.2011.41
51. Takeda K, Suzuki K, Ishihara A, et al. Nanoparticles transferred from pregnant mice to their offspring can damage the genital and cranial nerve systems. *Journal of Health Science*. 2009;55(1):95–102. doi: 10.1248/jhs.55.95
52. Shimizu M, Tainaka H, Oba T, et al. Maternal exposure to nanoparticulate titanium dioxide during the prenatal period alters gene expression related to brain development in the mouse. *Particle and Fibre Toxicology*. 2009;6:20. doi: 10.1186/1743-8977-6-20
53. Naserzadeh P, Ghanbary F, Ashtari P, et al. Biocompatibility assessment of titanium dioxide nanoparticles in mice fetoplacental unit. *Journal of Biomedical Materials Research: Part A*. 2017; 106A:580–589. doi: 10.1002/jbm.a.36221
54. Hao Y, Liu J, Feng Y, Yu Sh, et al. Molecular evidence of offspring liver dysfunction after maternal exposure to zinc oxide nanoparticles. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2017;329:318–325. doi: 10.1016/j.taap.2017.06.021
55. Ema M, Okuda H, Gamo M, Honda K. A review of reproductive and developmental toxicity of silver nanoparticles in laboratory animals. *Reproductive Toxicology*. 2017;67:149–164. doi: 10.1016/j.reprotox.2017.01.005
56. Zin'kovskaya I, Ivlieva AL, Petritskaya EN, Rogatkin DA. Surprising effect of long-term oral administration of silver nanoparticles on fertility in mice. *Ekologiya cheloveka* [Human Ecology]. 2020;27(10):23–30. doi: 10.33396/1728-0869-2020-10-23-30
57. Petritskaya EN, Abaeva LF, Rogatkin DA, et al. On the toxicity of silver nanoparticles after oral administration of a colloidal solution. *Almanac of Clinical Medicine*. 2011;(25):9–12.
58. Beizel' NF. Atomno-absorbtsionnaya spektrometriya: uchebnoe posobie. Novosibirsk : Novosibirsk state university Publ; 2008.
59. Ha Y, Tsay OG, Churchill DG. A tutorial and mini-review of the ICP-MS technique for determinations of transition metal ion and main group element concentration in the neurodegenerative and brain sciences. *Monatshefte für Chemie — Chemical Monthly*. 2011;142:385–398. doi: 10.1007/s00706-010-0438-6
60. Evdokimov II, Pimenov VG, Fadeeva DA. ICP-AES high purity arsenic analysis. *Analitika i kontrol'* [Analytical and control]. 2015;19(1):13–20. doi: 10.15826/analitika.2015.19.1.006
61. Pupyshev AA, Danilova DA. The use of inductively coupled plasma atomic emission spectrometry for the analysis of materials and products of ferrous metallurgy. *Analitika i kontrol'* [Analytical and control]. 2007;11(2-3):131–181.
62. Meermann B, Nischwitz V. ICP-MS for the analysis at the nanoscale — a tutorial review. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2018;33(9):1432–1468. doi: 10.1039/C8JA00037A
63. Pröfrock D, Prange A. Inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) for quantitative analysis in environmental and life sciences: a review of challenges, solutions, and trends. *Applied spectroscopy*. 2012;66 (8): 843–868. doi: 10.1366/12-06681
64. Wilschefschi SC, Baxter MR. Inductively coupled plasma mass spectrometry: introduction to analytical aspects. *The Clinical Biochemist Reviews*. 2019;40(3):115–133. doi: 10.33176/AACB-19-00024
65. Mozhayeva D, Engelhard C. A critical review of single particle inductively coupled plasma mass spectrometry — a step towards an ideal method for nanomaterial characterization. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2020; 35:1740–1783. doi: 10.1039/C9JA00206E
66. Nikolaeva IV, Paleskii SV, Karpov AV. Comparison of ICP / MS analysis of geological samples in the variant of solutions and laser ablation of glasses. *Izvestiya Tomskogo Politehnicheskogo Universiteta Inzhiring Georesursov*. 2019;330(5):26–34. doi: 10.18799/24131830/2019/5/263
67. Koch J, Günther D. Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. Encyclopedia of spectroscopy and spectrometry. 3d ed. Lindon J., Tranter G.E., Koppenaal D., editors. Oxford: Academic Press; 2017.
68. Haschke M. Laboratory micro-X-ray fluorescence spectroscopy. Instrumentation and applications. London: Springer Publ; 2013.
69. Veith L, Dietrich D, Vennemann A, et al. Combination of micro X-ray fluorescence spectroscopy and time-of-flight secondary ion mass spectrometry imaging for the marker-free detection of CeO₂ nanoparticles in tissue sections. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2018;33:491–501. doi: 10.1039/C7JA00325K
70. Bode P, Greenberg RR, De Nadai Fernandes EA. Neutron activation analysis: a primary (ratio) method to determine Si-traceable values of element content in complex samples. *CHIMIA International Journal for Chemistry*. 2009;63(10):678–680. doi: 10.2533/chimia.2009.678
71. Frontasyeva MV. Neutron activation analysis in the life sciences. *Physics of Particles and Nuclei*. 2011;42(2):332–378. doi: 10.1134/S1063779611020043
72. Zinicovscaia I, Grozdov D, Yushin N, et al. Neutron activation analysis as a tool for tracing the accumulation of silver nanoparticles in tissues of female mice and their offspring. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 2019;322:1079–1083. doi: 10.1007/s10967-019-06746-9
73. Sun D, Siddiqui MOR, Iqbal K. Specialty testing techniques for smart textiles. 2nd ed. In: Smith W., editor. *Smart textile coatings and laminates*. Woodhead Publishing, 2018. P:99–116..
74. Pinto AMFR, Oliveira VB, Falcão D. *Direct alcohol fuel cells for portable applications fundamentals*. Engineering and advances. London: Academic Press Publ; 2018.
75. Raval N, Maheshwari R, Kalyane D, et al. *Importance of physicochemical characterization of nanoparticles in pharmaceutical product development*. Basic fundamentals of drug delivery. Tekade R., editor. London: Academic Press; 2019.

ОБ АВТОРАХ

***Ивлиева Александра Леонидовна**, младший научный сотрудник; адрес: Россия 129110, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6331-6233>; eLibrary SPIN: 5555-1343; e-mail: ivlieva@medphyslab.com

Зиньковская Инга, д.х.н.,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0820-887X>;
eLibrary SPIN: 6814-1720; e-mail: zinikovskaia@mail.ru

Петрицкая Елена Николаевна, к.б.н.,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3836-0103>;
eLibrary SPIN: 2641-3111; e-mail: medphys@monikiweb.ru

Рогаткин Дмитрий Алексеевич, д.т.н., доцент;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7755-308X>;
eLibrary SPIN: 9130-8111; e-mail: d.rogatkin@monikiweb.ru

AUTHORS INFO

***Alexandra L. Ivlieva**, researcher;
address: 61/2 Schepkin street, 129110 Moscow, Russia;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6331-6233>;
eLibrary SPIN: 5555-1343; e-mail: ivlieva@medphyslab.com

Inga Zinikovskaia, Dr. Sci. (Chem.);
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0820-887X>;
eLibrary SPIN: 6814-1720; e-mail: zinikovskaia@mail.ru

Elena N. Petriskaya, Cand. Sci. (Biol.);
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3836-0103>;
eLibrary SPIN: 2641-3111; e-mail: medphys@monikiweb.ru

Dmitry A. Rogatkin, Dr. Sci. (Technic), Associate Professor;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7755-308X>;
eLibrary SPIN: 9130-8111; e-mail: d.rogatkin@monikiweb.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco66793>

Оценка влияния антитабачного законодательства на госпитализацию пациентов с заболеваниями органов дыхания в трёх регионах Российской Федерации

Т.А. Агишина, А.В. Концевая, М.Г. Гамбарян, О.М. Драпкина

Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины, Москва, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Цель. Оценить влияние антитабачных мер в рамках Федерального антитабачного закона на госпитальную заболеваемость пневмониями различной этиологии и другими острыми респираторными инфекциями нижних дыхательных путей, а также бронхиальной астмой в Самарской, Архангельской областях и Чувашской Республике.

Материал и методы. Проведён ретроспективный анализ ежемесячных показателей госпитальной заболеваемости пневмониями (коды J12–J18 по МКБ-10) и другими острыми респираторными инфекциями нижних дыхательных путей (коды J20–J22 по МКБ-10), бронхиальной астмой (код J45 по МКБ-10), астматическим статусом (код J46 по МКБ-10) в трёх регионах Российской Федерации с 01.01.2012 г. по 31.12.2017 г., а также в подгруппах по возрасту (0–14, 15–59, 60 лет и старше). Анализ проводили при помощи пакета программ STATA 15.0 методом прерванных временных рядов (interrupted time series).

Результаты. Выявлено снижение госпитальной заболеваемости инфекциями дыхательных путей после каждого из этапов введения антитабачных мер в трёх регионах Российской Федерации: в Архангельской области снижение составило 19% в 2013 году и 22% — в 2014 году, в Самарской области — 20 и 23% соответственно, в Чувашской Республике — 31 и 39% соответственно. Статистически значимое снижение госпитальной заболеваемости бронхиальной астмой и астматическим статусом наблюдалось лишь в Чувашской Республике (на 11% — в 2013 году и на 12% — в 2014 году). В других регионах снижение было статистически не значимым.

Заключение. Антитабачные меры, внедрённые в России в 2013 и 2014 годах, привели к снижению числа госпитализаций по поводу инфекций нижних дыхательных путей.

Ключевые слова: антитабачное законодательство; инфекции нижних дыхательных путей; пневмония; бронхиальная астма; анализ прерванных временных рядов.

Как цитировать:

Агишина Т.А., Концевая А.В., Гамбарян М.Г., Драпкина О.М. Оценка влияния антитабачного законодательства на госпитализацию пациентов с заболеваниями органов дыхания в трёх регионах Российской Федерации // Экология человека. 2022. Т. 29, № 3. С. 163–173.

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco66793>

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco66793>

Impact of anti-tobacco legislation on hospitalization of patients with respiratory diseases in three regions of the Russian Federation

Tatjana A. Agishina, Anna V. Kontsevaya, Marine G. Gambaryan, Oksana M. Drapkina

National medical research center for therapy and preventive medicine, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

AIM: To assess the impact of anti-tobacco measures under federal anti-tobacco law on the hospital admissions for pneumonia of various diagnoses, and other acute respiratory infections of the lower respiratory tract, bronchial asthma, and asthmatic status in the Samara, Arkhangelsk regions, and the Chuvash Republic.

MATERIAL AND METHODS: A retrospective analysis of monthly hospital admissions for pneumonia (ICD-10 J12–J18), and other acute respiratory infections of the lower respiratory airways (ICD-10 J20–J22), asthma (ICD-10 J45), and status asthmaticus (ICD-10 J46) was carried out in the three selected regions of the Russian Federation from the 1st of January, 2012, till the 31st of December, 2017, and in subgroups (0–14, 15–59, 60 years, and older). The analytical approach used was the interrupted time series method, which was performed using the STATA 15.0 software package.

RESULTS: From this study, it was revealed that there was a decrease in the hospital incidence of respiratory airways infections after each stage of enacting the anti-tobacco policy in all the three selected regions of the Russian Federation. In the Arkhangelsk region, this decrease amounted to 19% in 2013, and 22% in 2014. In the Samara region, 20% and 23% respectively, and the Chuvash Republic, 31% and 39% respectively. A significant decrease in hospital admissions for asthma and status asthmaticus was observed only in the Chuvash Republic (the decrease occurred by 11% in 2013, and by 12% in 2014). In other regions, the observed decrease was not significant.

CONCLUSION: From this study, the results obtained have shown that the anti-tobacco measures introduced in Russia in 2013 and 2014 were responsible for the decrease in the number of hospitalizations for lower respiratory airways infections within the same period.

Keywords: anti-tobacco legislation; lower respiratory airways infections; pneumonia; asthma; interrupted time series.

To cite this article:

Agishina TA, Kontsevaya AV, Gambaryan MG, Drapkina OM. Impact of anti-tobacco legislation on hospitalization of patients with respiratory diseases in three regions of the Russian Federation. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2022;29(3):163–173. DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco66793>

ВВЕДЕНИЕ

Курение — один из предотвратимых факторов риска заболеваемости как инфекционными, так и неинфекционными болезнями.

Воздействие табачного дыма на организм активных курильщиков и окружающих их людей (пассивных курильщиков) приводит к развитию заболеваний разных органов и систем. Одно из последствий потребления табака — повышение вероятности развития или обострения хронических болезней органов дыхания, в частности: хронических бронхитов, бронхиальной астмы (БА), хронической обструктивной болезни лёгких, эмфиземы лёгких, рака лёгкого. Кроме того, табак является причиной обострения инфекций дыхательных путей (грипп, пневмония, туберкулёз и др.) [1]. Вдыхание табачного дыма приводит к целому ряду патологических изменений в слизистых оболочках бронхов и лёгочной ткани, вызывает воспаление, нарушает механизмы местного иммунитета, делая лёгкие более восприимчивыми к бактериальным инфекциям [2]. Курение табака ассоциировано с риском развития БА вследствие индукции воспаления в дыхательных путях, в частности в малых бронхах, а также с риском развития ремоделирования дыхательных путей, в том числе дистальных. Таким образом возникает риск формирования воздушных ловушек и гетерогенности вентиляции лёгких. Кроме того, табачный дым может привести к гиперпродукции IgE и, следовательно, к гиперреактивности бронхов [3]. У детей, которые являются пассивными курильщиками, повышен риск обострения и развития БА [4], инфекций среднего уха [5], острых инфекций дыхательных путей [6].

По данным глобального опроса взрослого населения о потреблении табака (Global adult tobacco survey, GATS), в России курят около 30,9% населения, среди мужчин курящих — 49,8%, а среди женщин — 14,5%. По подростковому курению Россия также занимает одно из лидирующих мест в мире [7].

В 2008 году Россия присоединилась к Рамочной конвенции по борьбе против табака, разработанной ВОЗ. 23 февраля 2013 г. был принят федеральный закон № 15-ФЗ «Об охране здоровья граждан от воздействия окружающего табачного дыма, последствий потребления табака или потребления никотинсодержащей продукции» от 23.02.2013 г. (далее — Федеральный антитабачный закон), который вступил в силу на всей территории России 1 июня 2013 г. и обязателен к исполнению для всех субъектов Российской Федерации. Принятый антитабачный закон считается одним из самых жёстких в Европе и предусматривает внедрение целого комплекса мер, направленных на сокращение потребления табака.

Доказано, что запрет курения в общественных местах и другие антитабачные меры могут сопровождаться сокращением заболеваемости и смертности уже в первые месяцы после введения запрета. В работе [8] показано,

что при условии эффективного внедрения законов, направленных на ограничение потребления табака, фиксируется статистически значимое сокращение госпитализаций по поводу острого коронарного синдрома и острого инфаркта миокарда. Нами ранее [9] продемонстрировано сокращение госпитализаций по поводу острого инфаркта миокарда в трёх регионах Российской Федерации.

Существенно реже проводились исследования, в которых оценивали сокращение госпитализаций, связанных с заболеваниями дыхательных путей, такими как БА и пневмония. В работах [10, 11] показано немедленное снижение госпитализаций по поводу БА и инфекций нижних дыхательных путей сразу же после введения запрета на курение в общественных местах.

С учётом зарубежного опыта и данных отечественных исследователей для нашей работы выбраны нозологии, которые напрямую связаны с активным или пассивным курением (пневмонии и другие инфекции нижних дыхательных путей), поскольку они наиболее быстро реагируют на запрет курения в общественных местах [10]. Напротив, БА — это полиэтиологическое хроническое воспалительное заболевание, которое может не дать быстрого изменения госпитальной заболеваемости в ответ на применяемые антитабачные меры [1]. Поэтому БА и астматический статус выбраны в качестве контроля.

В Российской Федерации внедрение Федерального антитабачного закона на региональном уровне характеризовалось определёнными особенностями, которые могли повлиять на эффективность реализуемых законодательных мер, как показано в наших исследованиях [12, 13]. Данные о госпитализациях с конкретными заболеваниями являются рутинно собираемыми и могут быть использованы при анализе эффективности Федерального антитабачного закона в отдельных регионах Российской Федерации.

Цель. Изучить влияние мер Федерального антитабачного закона на госпитализацию пациентов с некоторыми заболеваниями органов дыхания в трёх регионах Российской Федерации — Чувашской Республике, Самарской и Архангельской областях.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Поскольку для оценки эффективности реализации законодательных мер рандомизированные контролируемые исследования неприемлемы, нами применён квази-экспериментальный дизайн с использованием методологии естественного эксперимента. Данная методология популяционных исследований широко используется для оценки эффективности вмешательств в области общественного здравоохранения.

Проведено ретроспективное исследование с анализом данных о госпитальной заболеваемости за 2012–2017 гг. в трёх регионах Российской Федерации: Самарской и Архангельской областях, Чувашской Республике.

За госпитальную заболеваемость принималось число случаев госпитализаций по поводу конкретного заболевания лиц, лечившихся в стационаре за определённый промежуток времени (месяц, год). При этом не учитывалось, является ли этот случай госпитализации первичным или повторным.

Изучена динамика госпитальной заболеваемости респираторными инфекциями, риск госпитализаций при возникновении или обострении которых ассоциирован с активным либо пассивным курением. Предметом статистического анализа были пневмонии различной этиологии (коды J12–J18 по МКБ-10) и другие острые респираторные инфекции нижних дыхательных путей (коды J20–J22 по МКБ-10), а также БА (код J45 по МКБ-10) и астматический статус (код J46 по МКБ-10) в качестве контроля.

Проанализированы показатели ежемесячной госпитальной заболеваемости вышеперечисленными респираторными инфекциями в трёх регионах: Архангельской области, Самарской области, Чувашской Республике. Анализ проводили с января 2012 г. по декабрь 2017 г. включительно среди всего населения в целом, а также в подгруппах по возрасту (0–14 лет, 15–59 лет и 60 лет и старше). Данные были взяты из территориальных фондов обязательного медицинского страхования указанных регионов, а не из форм федерального статистического наблюдения, потому что только эти данные отражают ежемесячную госпитализацию по различным нозологиям, а сбор такой информации в федеральных статистических формах не предусмотрен.

Статистический анализ выполняли с помощью метода прерванных временных рядов (interrupted time series, ITS) в программе STATA 15.0. Этот метод традиционно используют в случаях, когда невозможны рандомизация и выделение контрольной группы, а также в ситуациях, когда необходима ретроспективная оценка эффективности мер, уже реализованных до начала исследования. Особенности данной методологии изложены нами ранее [14].

С помощью метода ITS устанавливается временной ряд (в нашем случае — данные ежемесячных госпитализаций), который «прерывается» вмешательством в конкретной точке. В нашем исследовании определены две контрольные точки — июнь 2013 г. и июнь 2014 г. Согласно Федеральному антирабочему закону, с 1 июня 2013 г. вступил в силу запрет курения на рабочих местах, в общественном транспорте, в школах, больницах, подъездах жилых домов, на детских площадках и вокзалах. С 1 июня 2014 г. запрещено курить в барах, ресторанах и гостиничных комплексах, в магазинах, поездах дальнего следования и на железнодорожных платформах.

Для анализа прерванных временных рядов чаще всего применяют метод наименьших квадратов. Регрессионная модель выглядит следующим образом:

$$Y_t = \beta_0 + \beta_1 T + \beta_2 X_t + \beta_3 T X_t,$$

где T — переменная времени, т.е. время от начала исследования в каждый момент наблюдения; X_t — переменная,

указывающая на то, было ли совершено вмешательство в данный момент времени t ($X_t=0$, если вмешательства ещё не было, $X_t=1$, если вмешательство уже произошло); Y_t — результат в каждой точке наблюдения; β_0 — начальный уровень, при котором $T=0$; β_1 — базовый тренд до вмешательства; β_2 — изменение уровня после проведённого вмешательства; β_3 — изменение тренда после проведённого вмешательства [15].

РЕЗУЛЬТАТЫ

На рис. 1 представлены результаты оценки динамики госпитальной заболеваемости методом ITS по поводу инфекций нижних дыхательных путей в трёх регионах на протяжении 2012–2017 гг., а на рис. 2 — аналогичные показатели в отношении БА.

При анализе полученных данных в отношении госпитальной заболеваемости инфекциями дыхательных путей (пневмониями различной этиологии и другими острыми респираторными инфекциями нижних дыхательных путей) установлено снижение показателей сразу же после введения каждого из двух этапов Федерального антирабочего закона во всех трёх исследуемых регионах (табл.). В Архангельской области снижение госпитальной заболеваемости инфекциями дыхательных путей составило 19% в 2013 году и 22% — в 2014 году, в Самарской области — 20 и 23% соответственно, в Чувашской Республике — 31 и 39% соответственно. Во всех трёх регионах более выраженное снижение госпитальной заболеваемости наблюдалось в 2014 году, т.е. после введения второго пакета противорабочих мер. При сравнении регионов видно, что наибольшее снижение отмечено в Чувашской Республике.

Степень снижения госпитальной заболеваемости инфекциями дыхательных путей была относительно небольшой в старшей возрастной подгруппе (60 лет и старше), при этом в Самарской области снижение госпитальной заболеваемости в этой подгруппе было статистически не значимым. В Архангельской области наибольшее сокращение госпитальной заболеваемости инфекциями нижних дыхательных путей наблюдалось в возрастной группе 0–14 лет (25,7 и 30,7% в 2013 и 2014 годах соответственно), тогда как в Самарской области и Чувашской Республике максимальное снижение госпитальной заболеваемости обнаружено в возрастной группе 15–59 лет.

Из трёх исследуемых регионов наибольшее снижение госпитальной заболеваемости инфекциями нижних дыхательных путей (44%) было достигнуто в Чувашской Республике в 2014 году — в возрастной группе 15–59 лет.

Небольшое, но статистически значимое снижение госпитальной заболеваемости БА и частоты случаев астматического статуса наблюдалось только в одном из регионов — в Чувашской Республике: на 11% в 2013 году и на 12% — в 2014 году. В других регионах снижения практически не было (Самарская область) либо оно было статистически не значимым (Архангельская область).

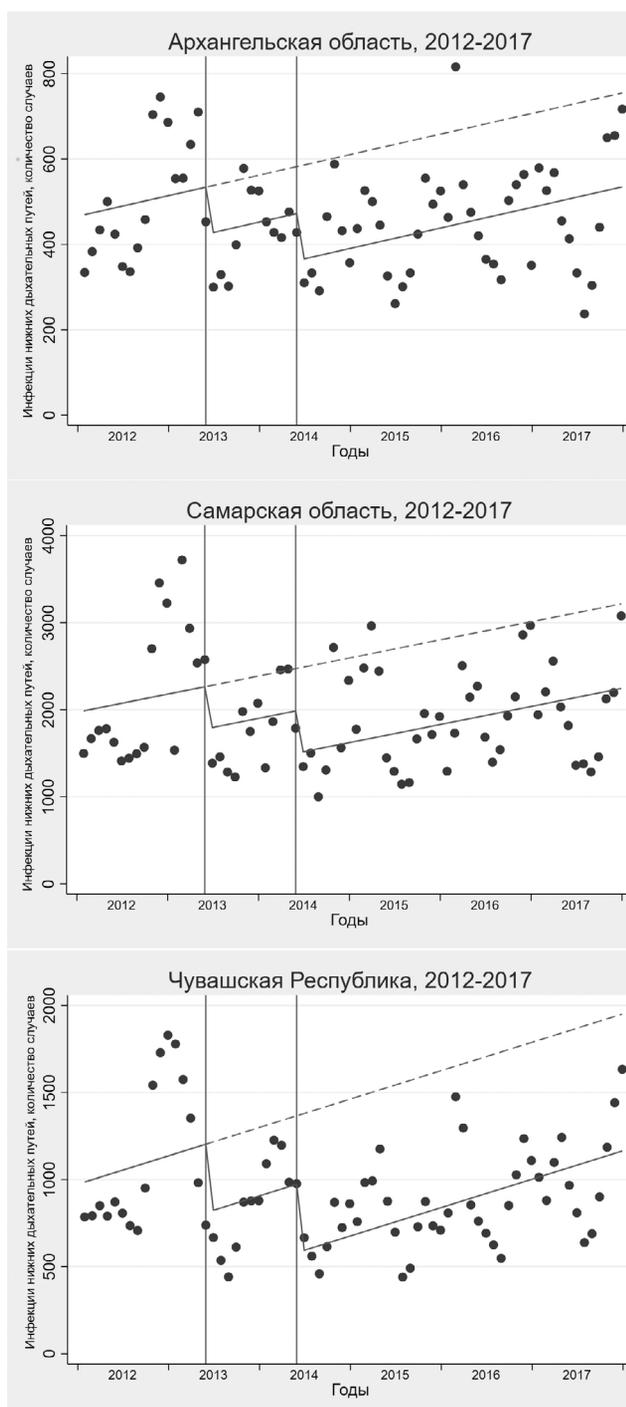


Рис. 1. Динамика госпитальной заболеваемости инфекциями нижних дыхательных путей в трёх регионах Российской Федерации в 2012–2017 гг.

Fig. 1. Dynamics of hospital morbidity rates of lower respiratory tract infections in three regions of the Russian Federation in 2012–2017.

ОБСУЖДЕНИЕ

С помощью метода ITS нами изучена динамика абсолютного числа госпитализаций (госпитальной заболеваемости) по поводу инфекций нижних дыхательных путей и БА в трёх регионах Российской Федерации в двух временных точках. За временные точки были приняты даты

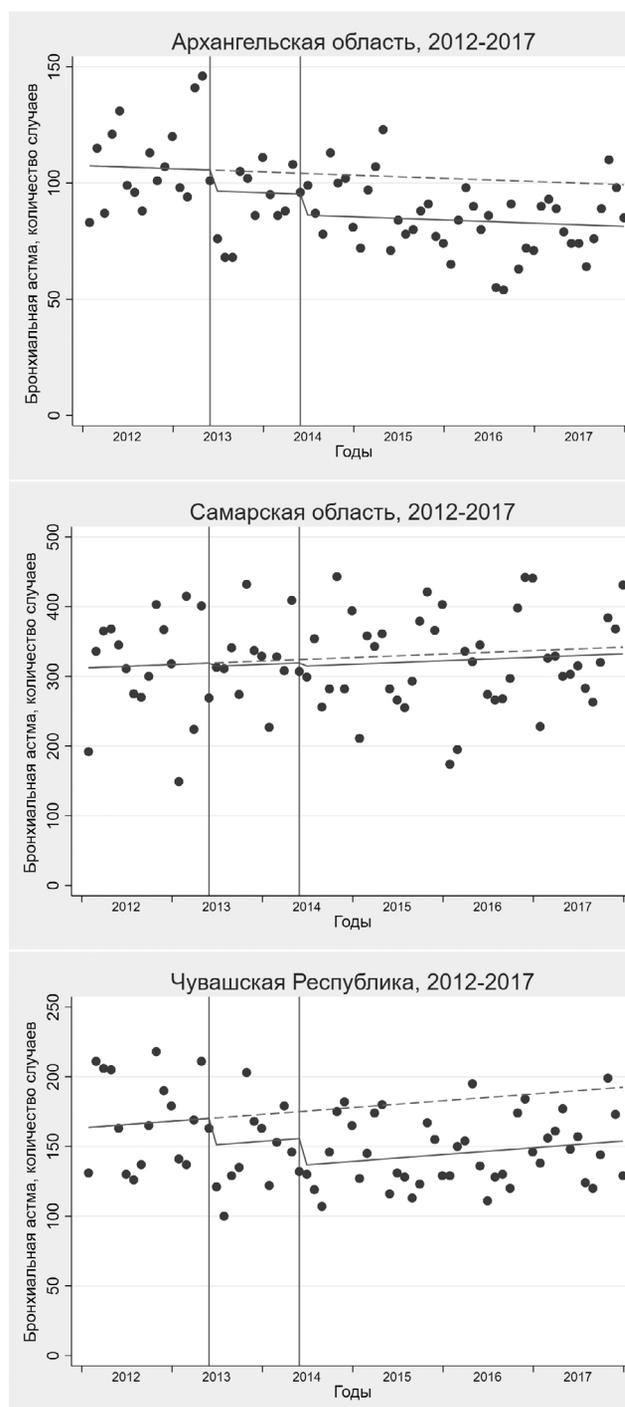


Рис. 2. Динамика госпитальной заболеваемости бронхиальной астмой в трёх регионах Российской Федерации в 2012–2017 гг.

Fig. 2. Dynamics of hospital morbidity rates of asthma in three regions of the Russian Federation in 2012–2017.

введения в действие первого и второго пакетов противотабачных мер Федерального антитабачного закона, т.е. 1 июня 2013 г. и 1 июня 2014 г. соответственно. Демонстрировано сокращение госпитальной заболеваемости инфекциями нижних дыхательных путей во всех трёх регионах и небольшое снижение количества госпитализаций

Таблица 1. Динамика госпитальной заболеваемости инфекциями нижних дыхательных путей и бронхиальной астмой в трёх регионах Российской Федерации в 2012–2017 гг. среди популяции в целом и в отдельных возрастных группах

Table 1. Dynamics of hospital morbidity rates of lower respiratory tract infections and asthma in three regions of the Russian Federation in 2012–2017 among the population and in age groups

Регион / Region	Код по МКБ-10 / ICD code	Все / All		Возраст / Age					
				0–14		15–59		60 и старше / 60 and older	
		2013	2014	2013	2014	2013	2014	2013	2014
Архангельская область	J12–J18 J20–J22	19,8%*	22,4%*	25,7%*	30,7%*	20%*	23,5%*	12,8%*	13%*
	J45–J46	8,6%	9,5%	—	—	—	—	—	—
Самарская область	J12–J18 J20–J22	20,7%*	23,6%*	18,9%*	21,1%*	28,5%*	35,4%*	6,8%	6,9%
	J45–J46	1,3%	1,3%	—	—	—	—	—	—
Чувашская Республика	J12–J18 J20–J22	31,5%*	39%*	33,5%*	40,9%*	33,3%*	44,4%*	20,7%*	23,7%*
	J45–J46	11,1%*	12,1%*	—	—	—	—	—	—

* $p < 0,05$.

по поводу БА только в одном регионе. Наибольший эффект отмечен в Чувашской Республике, наименьший — в Архангельской области, что соответствует показателям полноты реализации антитабачных мер и распространённости курения в этих регионах [12, 13].

В настоящее время в мире относительно немного исследований, изучавших влияние антитабачного законодательства на госпитализации при респираторных заболеваниях. Имеются противоречивые данные о влиянии запрета курения в общественных местах на состояние дыхательной системы. Так, в работе [16] показано значимое снижение неблагоприятных респираторных симптомов у работников гостиничного бизнеса. Имеются данные о снижении показателей госпитализации по поводу респираторных заболеваний после введения запрета на курение в общественных местах в Канаде [17], Швейцарии [8], Ирландии [10, 18], Шотландии [19] и Англии [20, 21] — от 4,9 до 33%.

В нашем исследовании продемонстрировано значительное снижение госпитальной заболеваемости пневмонией различной этиологии (коды J12–J18 по МКБ-10) и другими острыми респираторными инфекциями нижних дыхательных путей (коды J20–J22 по МКБ-10) во всех трёх исследуемых регионах страны, причём во всех возрастных группах, включая детей 0–14 лет. Данный факт представляет несомненный интерес, поскольку дети в наименьшей степени подвергаются воздействию окружающего табачного дыма в общественных местах. Некоторые исследования указывают на связь увеличения встречаемости респираторных инфекций у детей с воздействием на них табачного дыма [6]. Исследования, проведённые в Великобритании среди детей до 12 лет

и в США [22, 23], указывают на отсутствие статистически значимых изменений в частоте респираторных инфекций после запрета курения в общественных местах и на отсутствие связи респираторных инфекций и пневмоний у детей с их пассивным курением. В нашем же исследовании мы получили статистически значимое снижение показателей ежемесячной госпитальной заболеваемости инфекциями нижних дыхательных путей у детей в возрасте от 0 до 14 лет включительно (до 40%). Вероятно, такие разные результаты могут быть связаны с тем, что госпитальная заболеваемость инфекциями нижних дыхательных путей у детей (в особенности до 5 лет) во многом зависит от их подверженности воздействию окружающего табачного дыма дома, а не в общественных местах. После принятия Федерального антитабачного закона распространённость подверженности воздействию вторичного табачного дыма дома среди подростков сократилась с 76,4% в 2004 году до 36,7% в 2015 году, по данным Глобального обследования употребления табака среди молодежи (Global youth tobacco survey, GYTS) [12]. Ещё одним косвенным подтверждением наших результатов может служить факт снижения заболеваемости хроническим бронхитом после 2014 года, причём скорость снижения коррелировала с уровнем снижения пассивного и активного курения, по данным GYTS и GATS, в каждой из возрастных групп (0–14, 15–17, 18 лет и старше) [24]. Однако снижение госпитальной заболеваемости пневмониями в младшей возрастной группе может быть также следствием включения вакцинации против пневмококковой инфекции в календарь профилактических прививок детей от двух месяцев с 2014 года. Календарь прививок был утверждён приказом Министерства здравоохранения Российской

Федерации от 21.03.2014 г. №125н «Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям».

При исследовании госпитальной заболеваемости БА (код J45 по МКБ-10) и астматическим статусом (код J46 по МКБ-10) снижение наблюдалось только в одном из регионов — в Чувашской Республике. Уже в 2004 году в Чувашской Республике были предприняты первые шаги по ограничению курения в общественных местах в соответствии с указом Президента Чувашской Республики № 129 от 29 ноября 2004 г. «О профилактике курения табака» и постановлением Кабинета министров Чувашской Республики № 33 от 11 февраля 2005 г. «О республиканской программе по ограничению курения табака в Чувашской Республике на 2005–2007 гг.». Эти законодательные документы предписывали запрет на курение в общественных местах (за исключением специально отведённых), а с 2010 года в республике уже действовали полный запрет на курение в общественных местах и другие анти-табачные меры. На момент принятия Федерального анти-табачного закона на территории Чувашской Республики были реализованы многие из мер, включённые в закон № 15-ФЗ. Кроме того, в Чувашской Республике лучше, чем в других регионах, соблюдались нормы Федерального анти-табачного закона [12, 13].

Эти результаты предположительно подтверждают нашу гипотезу о том, что запрет курения в общественных местах оказывает не краткосрочное, а отсроченное положительное влияние на состояние дыхательной системы. Обострение БА — это многофакторное событие, включающее бактериальные или вирусные инфекции, конституциональные факторы, активное курение, воздействие вторичного табачного дыма и других загрязнителей окружающей среды, которые синергически индуцируют воспаление в нижних дыхательных путях [2, 8]. Следовательно, при удалении одного из факторов (табачного дыма) уменьшается хроническое воспаление, но не сразу, а постепенно, в отличие от острых инфекций дыхательных путей, что и подтверждают результаты нашего исследования. Наличие эффекта только в Чувашской Республике является косвенным подтверждением долгосрочного положительного влияния противотабачных мер на здоровье дыхательной системы. Кроме того, на всеобщий результат могли повлиять введённые в 2013 году Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению бронхиальной астмы, благодаря которым повысилась выявляемость заболевания и тем самым нивелировался и так небольшой эффект Федерального анти-табачного закона. Некоторые исследования указывают на сокращение госпитализаций по поводу хронических респираторных болезней, в частности БА, после введения запрета курения в общественных местах: от 7,4% (Испания) до 22% (США) [11, 25–27]. Отличия от результатов настоящего исследования могут

быть обусловлены различиями систем здравоохранения и отсутствием амбулаторно-поликлинического этапа лечения этих заболеваний в других странах. Например, в Уругвае было установлено сокращение частоты экстренных посещений врача по поводу БА на 15% после введения запрета курения в общественных местах и отсутствии динамики числа госпитализаций по поводу БА [28]. Аналогичные данные получены исследователями в США (Округ Олмстед, штат Миннесота), где снижение числа посещений отделений неотложной помощи по поводу БА сократилось на 22% [29].

20 декабря 2012 г. был издан приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от № 1086н «Об утверждении стандарта скорой медицинской помощи при астме». Это повысило эффективность лечения нетяжёлых форм БА на амбулаторном этапе. Мы не исследовали данные о менее тяжёлых обострениях астмы, не требующих госпитализации. Вероятно, обращение за скорой медицинской помощью и посещение врачей амбулаторно могут лучше отразить краткосрочные эффекты Федерального анти-табачного закона на функции дыхательной системы пациентов с БА. Это также объясняет отсутствие краткосрочного влияния на госпитальную заболеваемость в двух регионах, где снизилось лишь количество нетяжёлых обострений, не требующих госпитализации, тогда как в Чувашии мы видим отсроченный эффект в виде снижения количества тяжёлых обострений БА.

Исследователи отмечают наиболее выраженное снижение числа госпитализаций по поводу заболеваний дыхательных путей после введения более строгого, или полного, запрета на курение в общественных местах, чем после частичного ограничения [11, 24, 26]. Аналогичные данные мы получили и в нашем исследовании. Во всех трёх регионах наблюдалось более выраженное снижение госпитальной заболеваемости по поводу инфекций дыхательных путей в 2014 году, когда в России был введён полный запрет на курение в общественных местах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Противотабачные меры, предусмотренные Федеральным анти-табачным законом, приводят к быстрому и статистически значимому снижению госпитальной заболеваемости инфекциями нижних дыхательных путей. Некоторые региональные различия можно объяснить особенностями внедрения противотабачных мер, а также нельзя исключить воздействие географических и экологических особенностей региона, образа жизни населения и др.

Различие динамики госпитальной заболеваемости по поводу БА после внедрения закона, запрещающего курение в общественных местах (наличие достоверного эффекта в Чувашской Республике и его отсутствие в двух других регионах), вероятно, обусловлено отсроченным эффектом в отношении госпитальной заболеваемости

пациентов с тяжёлым течением БА, требующим госпитализации.

Настоящее исследование даёт возможность сравнить результаты применения одного и того же закона в разных субъектах Российской Федерации, находящихся в едином правовом поле. Полнота правоприменения закона и исполнение антитабачных мер могут быть различными в разных регионах и зависеть от законодательной практики субъектов, качества работы контрольно-надзорных органов, степени влияния табачных кампаний в регионе. Наше исследование убедительно доказывает, что не только введение комплекса законодательных мер, но и уровень их исполнения определяют эффективность этих мер, в частности в отношении госпитальной заболеваемости респираторными инфекциями.

Предложенный метод ITS довольно прост в применении, требует лишь наличия качественных данных о госпитальной заболеваемости, собираемых территориальными фондами обязательного медицинского страхования, поэтому он может стать доступным способом оценки эффективности антитабачной политики, проводимой в Российской Федерации.

Результаты нашего исследования в очередной раз подтверждают эффективность и важность противотабачных мер, ограничивающих потребление табака и курение в общественных местах на территории России, для укрепления здоровья населения нашей страны. Снижение случаев инфекций нижних дыхательных путей у детей и людей трудоспособного возраста приносит экономические выгоды и является потенциалом для сокращения расходов на здравоохранение.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гамбарян М.Г., Драпкина О.М. Хроническая обструктивная болезнь лёгких и курение табака: принципы и пути профилактики: обзор // Профилактическая медицина. 2017. Т. 20, № 5. С. 74–82. doi: 10.17116/profmed201720574-82
2. Flouris A.D., Koutedakis Y. Immediate and short-term consequences of secondhand smoke exposure on the respiratory system // *Curr Opin Pulm Med*. 2011. Vol. 17, N 2. P. 110–115. doi: 10.1097/mcp.0b013e328343165d
3. Титова О.Н., Суховская О.А., Куликов В.Д. Табакокурение и внебольничная пневмония // *РМЖ. Медицинское обозрение*. 2019. Т. 9, № 1. С. 34–37.
4. Yamasakia A., Hanakib K., Tomitac K., et al. Environmental tobacco smoke and its effect on the symptoms and medication in children with asthma // *Int J Environ Health Res*. 2009. Vol. 19, N 2. P. 97–108. doi: 10.1080/09603120802392884
5. Collet J.P., Larson C.P., Boivin J.F., Suissa S., Pless I.B. Parental smoking and risk of otitis media in pre-school children // *Can J Public Health*. 1995. Vol. 86, N 4. P. 269–273.
6. Mishra V., Smith K.R., Retherford R.D. Effects of cooking smoke and environmental tobacco smoke on acute respiratory infections in young Indian children // *Population and environment*. 2005. Vol. 26, N. 5. P. 375–396. doi: 10.1007/s11111-005-0005-y
7. Сахарова Г.М., Антонов Н.С., Салагай О.О., Донитова В.В. Глобальное обследование употребления табака среди молодежи в возрасте 13–15 лет в Российской Федерации: сравнение тенденций в 2004 и 2015 гг. // *Пульмонология*. 2017. Т. 27, № 2. С. 179–186. doi: 10.18093/0869-0189-2017-27-2-179-186
8. Humair J.-P., Garin N., Gerste E., et al. Acute respiratory and cardiovascular admissions after a public smoking ban in Geneva, Switzerland // *PLoS One*. 2014. Vol. 9, N 3. P. e90417. doi: 10.1371/journal.pone.0090417
9. Концевая А.В., Агишина Т.А., Гамбарян М.Г., и др. Влияние мер антитабачной политики на уровень госпитальной заболеваемости острым инфарктом миокарда и нестабильной стенокардией в трёх регионах Российской Федерации // *Экология человека*. 2020. Т. 27, № 5. С. 37–44. doi: 10.33396/1728-0869-2020-5-37-44
10. Yıldız F., Barış S.A., Başıyigit İ., et al. Role of smoke-free legislation on emergency department admissions for smoking-related diseases in Kocaeli, Turkey // *East Mediterr Health J*. 2014. Vol. 20, N 12. P. 774–780. doi: 10.26719/2014.20.12.774
11. Galan I., Simon L., Boldo E., et al. Changes in hospitalizations for chronic respiratory diseases after two successive smoking bans

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ/ ADDITIONAL INFORMATION

Вклад авторов. Наибольший вклад распределён следующим образом: Т.А. Агишина — анализ данных, подготовка первого варианта статьи; А.В. Концевая — концепция и дизайн исследования, получение данных; М.Г. Гамбарян — получение данных и интерпретация результатов; О.М. Драпкина — редактирование статьи, окончательное утверждение рукописи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Author contribution. The greatest contribution is distributed as follows: T.A. Agishina — data analysis, preparation of the first version of the article; A.V. Kontsevaya — concept and design of the study, data acquisition; M.G. Gambaryan — data acquisition and interpretation of results; O.M. Drapkina — editing of the article, final approval of the manuscript. All authors confirm that their authorship meets the international ICMJE criteria (all authors have made a significant contribution to the development of the concept, research and preparation of the article, read and approved the final version before publication).

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Competing interests. The authors declares that there are no obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

- in Spain // *PLoS One*. 2017. Vol. 12, N 5. P. e0177979. doi: 10.1371/journal.pone.0177979
12. Гамбарян М.Г., Драпкина О.М. Интегральная шкала оценки реализации Федерального антитабачного закона в российских регионах // *Профилактическая медицина*. 2020. Т. 23. № 6. С. 50–59. doi: 10.17116/profmed20202306150
 13. Гамбарян М.Г., Драпкина О.М. Эффективность реализации антитабачных законодательных мер в отношении распространённости курения в 10 субъектах Российской Федерации с 2013 по 2018 г. // *Профилактическая медицина*. 2021. Т. 24. № 2. С. 44–51. doi: 10.17116/profmed20212402144
 14. Концевая А.В., Агишина Т.А., Гамбарян М.Г., Драпкина О.М., Салагай О.О. Анализ прерванных временных рядов как способ оценки эффективности мер популяционной профилактики: методология и пример оценки влияния антитабачного законодательства на госпитализации с острым коронарным синдромом // *Профилактическая медицина*. 2019. Т. 22, № 6. С. 40–47. doi: 10.17116/profmed20192206140
 15. Bernal J.L., Cummins S., Gasparrini A. Interrupted time series regression for the evaluation of public health interventions: a tutorial // *Int J Epidemiol*. 2017. Vol. 46, N 1. P. 348–355. doi: 10.1093/ije/dyw098
 16. Rajkumar S., Stolz D., Hammer J., et al. Effect of a smoking ban on respiratory health in nonsmoking hospitality workers: a prospective cohort study // *J Occup Environ Med*. 2014. Vol. 56, N 10. P. 86–91. doi: 10.1097/JOM.0000000000000262
 17. Naiman A., Glazier R.H., Moineddin R. Association of anti-smoking legislation with rates of hospital admission for cardiovascular and respiratory conditions // *CMAJ*. 2010. Vol. 182, N 8. P. 761–767. doi: 10.1503/cmaj.091130
 18. Kent B.D., Sulaiman I., Nicholson T.T., Lane S.J., Moloney E.D. Acute pulmonary admissions following implementation of a national workplace smoking ban // *Chest*. 2012. Vol. 142, N 3. P. 673–679. doi: 10.1378/chest.11-2757
 19. Mackay D., Haw S., Ayres J.G., Fischbacher C., Pell J.P. Smoke-free legislation and hospitalizations for childhood asthma // *N Engl J Med*. 2010. Vol. 363, N 12. P. 1139–1145. doi: 10.1056/NEJMoa1002861
 20. Sims M., Maxwell R., Gilmore A. Short-term impact of the smokefree legislation in England on emergency hospital admissions for asthma among adults: a population-based study // *Thorax*. 2013. Vol. 68, N 7. P. 619–624. doi: 10.1136/thoraxjnl-2012-202841
 21. Millett C., Lee J.T., Laverty A.A., Glantz S.A., Majeed A. Hospital admissions for childhood asthma after smoke-free legislation in England // *Pediatrics*. 2013. Vol. 131, N 2. P. e495–e501. doi: 10.1542/peds.2012-2592
 22. Been J.V., Szatkowski L., van Staa T-P., et al. Smoke-free legislation and the incidence of paediatric respiratory infections and wheezing/asthma: interrupted time series analyses in the four UK nations // *Sci Rep*. 2015. Vol. 5. P. 15246. doi: 10.1038/srep15246
 23. Gergen P.J., Fowler J.A., Maurer K.R., et al. The burden of environmental tobacco smoke exposure on the respiratory health of children 2 months through 5 years of age in the United States: third national health and nutrition examination survey, 1988 to 1994 // *Pediatrics*. 1988. Vol. 101, N 2. P. e8. doi: 10.1542/peds.101.2.e8
 24. Салагай О.О., Антонов Н.С., Сахарова Г.М., и др. Динамика заболеваемости хроническим бронхитом в Российской Федерации под влиянием государственной политики, направленной на снижение потребления табака // *Профилактическая медицина*. 2019. Т. 22, № 6-2. С. 7–13. doi: 10.17116/profmed2019220627
 25. Herman P.M., Walsh M.E. Hospital admissions for acute myocardial infarction, angina, stroke, and asthma after implementation of Arizona's comprehensive statewide smoking ban // *Am J Public Health*. 2011. Vol. 101, N 3. P. 491–496. doi: 10.2105/AJPH.2009.179572
 26. Hahn E.J., Rayens M.K., Adkins S., et al. Fewer hospitalizations for chronic obstructive pulmonary disease in communities with smoke-free public policies // *Am J Public Health*. 2014. Vol. 104, N 6. P. 1059–1065. doi: 10.2105/AJPH.2014.301887
 27. Rayens M.K., Burkhardt P.V., Zhang M., et al. Reduction in asthma-related emergency department visits after implementation of a smoke-free law // *J Allergy Clin Immunol*. 2008. Vol. 122, N 3. P. 537–541. doi: 10.1016/j.jaci.2008.06.029
 28. Kalkhoran S., Sebríe E.M., Sandoya E., Glantz S.A. Effect of uruguay's national 100% smokefree law on emergency visits for bronchospasm // *Am J Prev Med*. 2015. Vol. 49, N 1. P. 85–88. doi: 10.1016/j.amepre.2014.12.009
 29. Croghan I.T., Ebbert J.O., Hays J.T., et al. Impact of a countywide smoke-free workplace law on emergency department visits for respiratory diseases: a retrospective cohort study // *BMC Pulm Med*. 2015; Vol. 15. P. 6. doi: 10.1186/1471-2466-15-6

REFERENCES

1. Gambaryan MG, Drapkina OM. Chronic obstructive pulmonary disease and smoking: prevention principles and ways: a review. *Profilakticheskaya medicina*. 2017;20(5):74–82. (In Russ). doi: 10.17116/profmed201720574-82
2. Flouris AD, Koutedakis Y. Immediate and short-term consequences of secondhand smoke exposure on the respiratory system. *Current Opinion in Pulmonary Medicine*. 2011;17(2):110–115. doi: 10.1097/mcp.0b013e328343165d
3. Titova ON, Suhovskaya OA, Kulikov VD. Tobacco smoking and community-acquired pneumonia. *RMJ. Medical Review*. 2019;9(1):34–37. (In Russ).
4. Yamasakia A, Hanakib K, Tomitac K, et al. Environmental tobacco smoke and its effect on the symptoms and medication in children with asthma. *Int J Environ Health Res*. 2009;19(2):97–108. doi: 10.1080/09603120802392884
5. Collet JP, Larson ChP, Boivin JF, Suissa S, Pless IB. Parental smoking and risk of otitis media in pre-school children. *Can J Public Health*. 1995;86(4):269–273.
6. Mishra V, Smith KR, Retherford RD. Effects of cooking smoke and environmental tobacco smoke on acute respiratory infections in young Indian children. *Population and environment*. 2005;26(5):375–396. doi: 10.1007/s11111-005-0005-y

7. Saharova GM, Antonov NS, Salagaj OO, Donitova VV. Global survey on tobacco consumption by young subjects 13 to 15 years of age in Russian Federation (2004–2015). *Pul'monologiya*. 2017;27(2):179–186. (In Russ). doi: 10.18093/0869-0189-2017-27-2-179-186
8. Humair J-P, Garin N, Gerste E, et al. Acute respiratory and cardiovascular admissions after a public smoking ban in Geneva, Switzerland. *PLoS One*. 2014;9(3):e90417. doi: 10.1371/journal.pone.0090417
9. Kontsevaya AV, Agishina TA, Gambaryan MG, Duplyakov DV, Drapkina OM. Impact of anti-tobacco policy measures on acute myocardial infarction and unstable angina hospitalization rates in three Russian regions. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2020;27(5):37–44. (In Russ). doi: 10.33396/1728-0869-2020-5-37-44
10. Yıldız F, Barış SA, Başıyigit İ, et al. Role of smoke-free legislation on emergency department admissions for smoking-related diseases in Kocaeli, Turkey. *East Mediterr Health J*. 2014;20(12):774–780. doi: 10.26719/2014.20.12.774
11. Galan I, Simon L, Boldo E, et al. Changes in hospitalizations for chronic respiratory diseases after two successive smoking bans in Spain. *PLoS One*. 2017;12(5):e0177979. doi: 10.1371/journal.pone.0177979
12. Gambaryan MG, Drapkina OM. The integral scale to measure implementation of federal tobacco control law in Russian regions. *Profilakticheskaya medicina*. 2020;23(6):50–59. (In Russ). doi: 10.17116/profmed20202306150
13. Gambaryan MG, Drapkina OM. Impact of implementation of Tobacco control legislative measures on smoking prevalence in 10 Russian Federal subjects from 2013 to 2018. *Profilakticheskaya medicina*. 2021;24(2):44–51. (In Russ). doi: 10.17116/profmed20212402144
14. Kontsevaya AV, Agishina TA, Gambaryan MG, Drapkina OM, Salagaj OO. Interrupted time series analysis as a way to evaluate the effectiveness of population-based preventive measures: a methodology for and an example of evaluation of the impact of tobacco control legislation on hospitalizations for acute coronary syndrome. *Profilakticheskaya medicina*. 2019;22(6):40–47. (In Russ). doi: 10.17116/profmed20192206140
15. Bernal JL, Cummins S, Gasparrini A. Interrupted time series regression for the evaluation of public health interventions: a tutorial. *Int J Epidemiol*. 2017;46(1):348–355. doi: 10.1093/ije/dyw098
16. Rajkumar S, Stolz D, Hammer J, et al. Effect of a smoking ban on respiratory health in nonsmoking hospitality workers: a prospective cohort study. *J Occup Environ Med*. 2014;56(10):e86–e91. doi: 10.1097/JOM.0000000000000262
17. Naiman A, Glazier RH, Moineddin R. Association of anti-smoking legislation with rates of hospital admission for cardiovascular and respiratory conditions. *CMAJ*. 2010;182(8):761–767. doi: 10.1503/cmaj.091130
18. Kent BD, Sulaiman I, Nicholson TT, Lane SJ, Moloney ED. Acute pulmonary admissions following implementation of a national workplace smoking ban. *Chest*. 2012;142(3):673–679. doi: 10.1378/chest.11-2757
19. Mackay D, Haw S, Ayres JG, Fischbacher C, Pell JP. Smoke-free legislation and hospitalizations for childhood asthma. *N Engl J Med*. 2010;363(12):1139–1145. doi: 10.1056/NEJMoa1002861
20. Sims M, Maxwell R, Gilmore A. Short-term impact of the smoke-free legislation in England on emergency hospital admissions for asthma among adults: a population-based study. *Thorax*. 2013;68(7):619–624. doi: 10.1136/thoraxjnl-2012-202841
21. Millett C, Lee JT, Lavery AA, Glantz SA, Majeed A. Hospital admissions for childhood asthma after smoke-free legislation in England. *Pediatrics*. 2013;131(2):e495–e501. doi: 10.1542/peds.2012-2592
22. Been JV, Szatkowski L, van Staa T-P, et al. Smoke-free legislation and the incidence of paediatric respiratory infections and wheezing/asthma: interrupted time series analyses in the four UK nations. *Sci Rep*. 2015;5:15246. doi: 10.1038/srep15246
23. Gergen PJ, Fowler JA, Maurer KR, et al. The burden of environmental tobacco smoke exposure on the respiratory health of children 2 months through 5 years of age in the United States: third national health and nutrition examination survey, 1988 to 1994. *Pediatrics*. 1988;101(2):e8. doi: 10.1542/peds.101.2.e8
24. Salagaj OO, Antonov NS, Saharova GM, et al. Trends in the incidence of chronic bronchitis in the Russian Federation, which are influenced by government policy aimed at reducing tobacco use. *Profilakticheskaya medicina*. 2019;22(6-2):7–13. (In Russ). doi: 10.17116/profmed2019220627
25. Herman PM, Walsh ME. Hospital admissions for acute myocardial infarction, angina, stroke, and asthma after implementation of Arizona's comprehensive statewide smoking ban. *Am J Public Health*. 2011;101(3):491–496. doi: 10.2105/AJPH.2009.179572
26. Hahn EJ, Rayens MK, Adkins S, et al. Fewer hospitalizations for chronic obstructive pulmonary disease in communities with smoke-free public policies. *Am J Public Health*. 2014;104(6):1059–1065. doi: 10.2105/AJPH.2014.301887
27. Rayens MK, Burkhart PV, Zhang M, et al. Reduction in asthma-related emergency department visits after implementation of a smoke-free law. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;122(3):537–541. doi: 10.1016/j.jaci.2008.06.029
28. Kalkhoran S, Sebríe EM, Sandoya E, Glantz SA. Effect of Uruguay's national 100% smokefree law on emergency visits for bronchospasm. *Am J Prev Med*. 2015;49(1):85–88. doi: 10.1016/j.amepre.2014.12.009
29. Croghan IT, Ebbert JO, Hays JT, et al. Impact of a countywide smoke-free workplace law on emergency department visits for respiratory diseases: a retrospective cohort study. *BMC Pulm Med*. 2015;15:6. doi: 10.1186/1471-2466-15-6

ОБ АВТОРАХ

***Агишина Татьяна Александровна**, аспирант;
адрес: Россия, 101990, Москва, Петроверигский пер.,
д. 10, стр. 3;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0319-2242>;

eLibrary SPIN: 2100-9214; e-mail: avicenna85@mail.ru

Концевая Анна Васильевна, д.м.н., профессор;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2062-1536>;

eLibrary SPIN: 6787-2500; e-mail: koncanna@yandex.ru

Гамбарян Маринэ Генриевна, к.м.н.;

ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4018-8645>;

eLibrary SPIN: 9630-8272; e-mail: mgambaryan@gnicpm.ru

Драпкина Оксана Михайловна, д.м.н., профессор,

член-корреспондент РАН;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4453-8430>;

eLibrary SPIN: 4456-1297; e-mail: odrapkina@gnicpm.ru

AUTHORS INFO

***Tatiana A. Agishina**, MD, reasearcher;
address: 10, building 3, Petroverigsky per.,
101990, Moscow, Russia;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0319-2242>;

eLibrary SPIN: 2100-9214; e-mail: avicenna85@mail.ru

Anna V. Kontsevaya, MD, Dr. Sci. (Med.), professor;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2062-1536>;

eLibrary SPIN: 6787-2500; e-mail: koncanna@yandex.ru

Marine G. Gambaryan, MD, Cand. Sci. (Med.);

ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4018-8645>;

SPIN: 9630-8272; e-mail: mgambaryan@gnicpm.ru

Oksana M. Drapkina, MD, Dr. Sci. (Med.), professor;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4453-8430>;

eLibrary SPIN: 4456-1297;

e-mail: odrapkina@gnicpm.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco71603>

Анализ вариаций биоэлектрической активности сердца человека при острых гипоксических воздействиях

М.И. Бочаров*, А.С. Шилов

Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук, Сыктывкар, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Введение. В физиологии и медицине особое место отводится изучению гипоксических состояний организма. Описаны индуцируемые гипоксией реакции ведущих физиологических систем, в том числе кровообращения. Однако мало изучена кардиологическая составляющая индивидуальных реакций и их изменчивость при разной степени острой гипоксии (ОГ).

Цель. Изучение индивидуальных особенностей типов реакции сопряжённых параметров ЭКГ и их вариаций на разных этапах ОГ лёгкой и средней степени.

Материалы и методы. Две группы мужчин 18–26 лет ($n_1=30$ и $n_2=29$) подвергались с разницей в один год ОГ — 14,5 и 12,3% O_2 в течение 20 мин. Во временные периоды ОГ (5, 10, 20 мин) определяли амплитудные (P_{1II} , R_{II} , T_{1II} , VA_L , VA_R), временные ($R-R$, $Q-T$) параметры ЭКГ и оксигенацию крови (SpO_2). В подгруппах (кластерах) описаны особенности типов с «низкой» и «высокой» реакцией и её индивидуальной стабильностью при ОГ.

Результаты. Кластеризация отклонений параметров ЭКГ при ОГ 14,5 и 12,3% O_2 выделила 2 подгруппы (кластера), отличающихся как минимум по величине уменьшения суммарной VA_L и $R-R$. При ОГ 14,5% O_2 постепенно увеличивалось количество отличающихся параметров ЭКГ между подгруппами: на 5-й минуте — VA_L ($p < 0,001$), на 20-й минуте — R_{II} ($p=0,047$), T_{1II} ($p=0,016$), VA_L ($p < 0,001$), $R-R$ ($p=0,035$), $Q-T$ ($p=0,008$), а при ОГ 12,3% O_2 — только VA_L ($p < 0,001$). Установлено, что во все периоды ОГ 14,5% O_2 тип реакции сохранялся у 60% лиц, а при ОГ 12,3% O_2 — у 55,2%, в остальных случаях тип реакции параметров ЭКГ изменялся. При этом параллели между типами реакции и отклонениями SpO_2 не наблюдалось.

Заключение. Предполагается наличие двух типов сопряжённых реакций параметров ЭКГ в ответ на лёгкую и среднюю степень ОГ и их вариативность в 40 и 44,8% случаях соответственно, а также независимость дифференциации типов реакции по ЭКГ от развивающейся гипоксемии.

Ключевые слова: человек; острая гипоксия; оксигенация крови; электрокардиография.

Как цитировать:

Бочаров М.И., Шилов А.С. Анализ вариаций биоэлектрической активности сердца человека при острых гипоксических воздействиях // Экология человека. 2022. Т. 29, № 3. С. 175–185. DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco71603>

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco71603>

Variations of human heart bioelectrical signals at hypoxic exposure

Mihail I. Bocharov*, Aleksandr S. Shilov

Komi science centre of the Ural branch of the Russian academy of sciences, Syktyvkar, Russian Federation

ABSTRACT

BACKGROUND: In the area of physiology and medicine, special emphasis is placed on the study of hypoxic conditions. Hypoxic responses of some major physiological systems, including blood circulation, are described. However, the cardiological component of these individual responses, and their variability at different levels of acute hypoxia (AH) remains a poorly-studied aspect.

AIM: To study the individual characteristics of the response types in conjugated ECG parameters, and their variations at different stages of mild and medium AH.

MATERIAL AND METHODS: The experiments were performed on male subjects (18–26 years old) divided into two groups ($n_1=30$ and $n_2=29$), who were exposed to AH of 14.5% at 12.3% O_2 for 20 min. Amplitude (P_{1II} , R_{II} , T_{1II} , BA_L , BA_R) and temporal ($R-R$, $Q-T$) ECG parameters, and blood oxygenation (SpO_2) were determined at AH periods (at 5, 10, and 20 min respectively). In subgroups (clusters), the features of types with “low” and “high” responses, and their stability in AH are described.

RESULTS: Clustering of ECG variations with AH of 14.5% and 12.3% O_2 identified two subgroups (clusters), that differed at least in the magnitude of the decrease in the total BA_L and $R-R$. With AH of 14.5% O_2 , the number of different ECG parameters between subgroups gradually increased: at 5 min — BA_L ($p < 0.001$), at 20 min — R_{II} ($p=0.047$), T_{1II} ($p=0.016$), BA_L ($p < 0.001$), $R-R$ ($p=0.035$), $Q-T$ ($p=0.008$), and with AH 12.3% O_2 — only BA_L ($p < 0.001$). It was found that at all periods of AH of 14.5% O_2 in 60% of individuals, the type of response remained. Regarding AH of 12.3% O_2 — in 55.2% of the other cases, the type of response of ECG parameters changed. At the same time, no parallels were observed between the types of reactions and deviations in SpO_2 .

CONCLUSION: From this study, It can be assumed that there are two types of conjugated reactions of ECG parameters in response to mild and medium AH, and their variability is absent in 40% and 44.8% of cases, respectively, as well as the independence of differentiation of ECG responses types from hypoxemia.

Keywords: human; acute hypoxia; blood oxygenation; electrocardiography.

To cite this article:

Bocharov MI, Shilov AS. Variations of human heart bioelectrical signals at hypoxic exposure. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2022;29(3):175–185. DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco71603>

Submitted: 16.06.2021

Accepted: 18.02.2022

Published: 14.06.2022

ВВЕДЕНИЕ

Одна из важных проблем, занимающая особое место в экологической физиологии и медицине, — изучение влияния на организм человека экзогенной гипоксии, которая в зависимости от экспрессии комплекса HIF-1-регулируемых генов может способствовать развитию патологии или формированию компенсаторных механизмов адаптации [1–3]. За последние десятилетия всё больше внимания уделяется изучению действия острой нормобарической гипоксии на разные физиологические системы организма, среди которых особое место отводится сердечно-сосудистой системе и, в частности, сердцу как второму по чувствительности к гипоксемии органу после головного мозга [1]. Наибольшее количество работ посвящено характеру изменения вегетативной регуляции деятельности сердца человека при гипоксии. Установлено [4], что при дыхании смесью 8% O₂ в азоте в течение 15 мин у испытуемых отмечается одновременное усиление симпатического и ослабление парасимпатического влияния на сердце, и в большинстве случаев это сопровождается снижением вариабельности сердечного ритма (ВСР). Во многих исследованиях [5–7] находят подтверждение тот факт, что с увеличением степени гипоксического воздействия и его длительности, судя по спектральной мощности и другим параметрам ВСР, происходит снижение вегетативной модуляции сердца. Такие изменения вегетативного контроля особенно выражены при острой гипоксии (ОГ) между 14,5 и 9,8% O₂ и зависят от средств, вызывающих гипоксию, и индивидуальной реакции [6]. Существуют данные [5], что у мужчин и женщин сохраняется одинаковая направленность изменений параметров ВСР при кратковременном пребывании в условиях ОГ и гипоксической (высокогорной) гипоксии (на высотах 3619, 4600 и 5140 м).

При изучении интегративных механизмов в условиях ОГ (10% O₂ в течение 10 мин) установлено [8], что у спортсменов-бегунов высокой квалификации (в отличие от средней) увеличивается кардиореспираторная когерентность частоты дыхания с ритмом сердца в диапазоне частот 0,07–0,08 Гц, что свидетельствует о повышении «точности» настройки межсистемной регуляции у более тренированных спортсменов. Предполагается также, что в покое при ОГ (дыхание газовой смесью с 10% O₂ в азоте) и в сочетании с ортостатической нагрузкой величина изменения общего периферического сопротивления сосудов является фактором, определяющим гемодинамику [9]. Исследования на кошках и крысах показали, что при ОГ (10; 7,5; 5 и 3% O₂ в азоте) незначительно изменяется систолический выброс, но происходит перераспределение кровотока между разными органами и повышение лёгочного артериального давления и сосудистого сопротивления на фоне стабильного кровотока в лёгочных сосудах. Это сохраняет баланс между выбросом правого и левого желудочков сердца [10]. Замечено, что только в условиях

3% O₂ изменения гемодинамики зависели от разной устойчивости животных к гипоксии.

Особый интерес представляют детальные ЭКГ-исследования с ОГ, соответствующей высоте 4800 м над уровнем моря, и адаптации к гипоксической гипоксии (более 4000 м не менее 3 дней) с участием 456 испытуемых [11]. В этих исследованиях показано, что ОГ не вызвала нарушения проводимости, аритмии, изменений оси *QRS*, а уменьшения амплитуды зубцов *P* в разных отведениях были в пределах физиологической нормы. Установлено также, что при кратковременной адаптации к высоте 4000 м ни один параметр ЭКГ в покое и при двигательном тесте не достигал статистической значимости для прогнозирования патологических отклонений. В. Coustet с соавт. [11], анализируя материалы многих исследований, приходят к заключению, что наблюдаемые вариации параметров ЭКГ могут быть связаны с переменной реакцией сердца на гипоксию в зависимости от возраста, физической тренированности, но не опосредованы симпатической активностью.

Данные обзора [12] об ответе организма на гипоксию свидетельствуют о том, что выраженность дефицита кислорода имеет индивидуальную зависимость не столько от адаптационных возможностей и устойчивости организма к гипоксии, сколько от общей реактивности и чувствительности центральных механизмов регуляции.

Таким образом, анализ литературы указывает на недостаточную изученность индивидуальных особенностей реагирования сердца и его биоэлектрических процессов, в частности, в ответ на разную степень нормобарической гипоксии и практически на отсутствие сведений об изменчивости параметров ЭКГ в зависимости от силы и длительности действия экзогенной гипоксии. При этом укажем, что нормобарическая гипоксия, с определёнными оговорками [13], может моделировать действие гипоксической гипоксии на приспособительные регуляторные процессы сердца человека в естественной среде его жизнедеятельности. В принятых нами экспериментальных условиях разной степени ОГ моделировали контрастно отличающиеся высоты над уровнем моря (~3200 и ~4600 м), соответствующие высокогорью (3000–5000 м) [14] по рO₂ вдыхаемого воздуха [1].

Цель. Изучить индивидуальные особенности типов реакции сопряженных параметров ЭКГ и их вариаций на разных этапах острой гипоксии лёгкой и средней степени.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на базе кафедры физиологии спорта и физической реабилитации Сыктывкарского государственного университета имени Питирима Сорокина в один период года (январь–февраль) с участием двух групп физически здоровых мужчин 18–26 лет (студентов факультета физической культуры). Испытания проводили

в две серии с интервалом в год, сначала на одной группе ($n_1=30$), а затем — на другой ($n_2=29$), в период с 08:30 до 12:00 ч в помещении при термонейтральной температуре воздуха 21–23 °C.

Испытуемые обеих групп статистически значимо ($p > 0,05$) не различались по возрасту и основным антропометрическим признакам (длина и масса тела) [15]. Они были предварительно ознакомлены с протоколом исследования, процедура которого соответствовала этическим медико-биологическим нормам, изложенным в Хельсинкской декларации, и локальным актам биоэтического комитета Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, и дали письменное информированное согласие на участие.

Каждый испытуемый в положении лёжа на кушетке после стабилизации артериального давления подвергался острой нормобарической гипоксии в течение 20 мин. В первой серии испытуемые ($n_1=30$) дышали воздухом, обеднённым кислородом (14,5±0,16%), во второй серии ($n_2=29$) — 12,3±0,14%, что соответствует «базовому» (13–15% O₂) и «втягивающему» (11,0–12,9% O₂) режимам общепринятых интервальных нормобарических гипоксических тренировок [16], а также входит в диапазон гипокситерапии разных заболеваний [17]. Применяемым воздействиям условно даны номинальные (неметрические) определения: в первом случае «лёгкая», во втором — «средняя» степень ОГ. Испытуемые дышали через маску, соединённую с газовым мешком ёмкостью 50 л, в который поступал воздух, обеднённый кислородом, с помощью модифицированного концентратора AirSep PSA Oxygen Generator Onyx Series (AirSep Corporation, США). Процентное содержание O₂ в газовом мешке контролировали анализатором OxiQuant B (EnviteC-Wismar GmbH, Германия), снабжённым датчиком O₂ GOEL 369» (Diverse Lieferanten, Германия).

До и во время ОГ измеряли оксигенацию крови (SpO₂, %) и частоту сердечных сокращений (ЧСС в мин⁻¹) при помощи пульсоксиметра NONIN 8500 (Nonin Medical Inc., США). Расчётным методом [18] определяли минутный объём кровообращения (CO, мл/кг · мин⁻¹).

Электрокардиограмму регистрировали в покое, на 5-, 10- и 20-й минуте ОГ с помощью компьютеризованного комплекса «Кардиометр-МТ» (АО «МИКАРД-ЛАНА», Санкт-Петербург, Россия) с автоматической обработкой и усреднением за 24-секундный период измерения в трёх стандартных — I, II, III, трёх усиленных — aVR, aVL, aVF и шести грудных — V₁, V₂, V₃, V₄, V₅, V₆ — отведениях. Анализу подлежали амплитудные — P₁II, RII, T₁II (мВ) — и временные — R–R, Q–T (мс) — параметры ЭКГ. Дополнительно рассчитывали суммарную биоэлектрическую активность левого (BA_L=Rv₆+Savf+Sv₂) и правого (BA_R=Sv₆+Ravf+Rv₂) отделов сердца (мВ) [19].

Репрезентативность наблюдаемых выборок ($n_1=30$ и $n_2=29$) установлена по формуле [20], когда расчётные показатели для отклонений параметров ЭКГ составили $n=11–24$.

Статистический анализ выполнен с помощью пакета программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Наблюдаемые параметры имели нормальное распределение, подтверждённое тестом Колмогорова–Смирнова с поправкой Лиллиефорса и значениями коэффициентов асимметрии. Рассчитывали среднюю арифметическую величину (M), её ошибку (m), стандартное отклонение (SD), дисперсию (S²), разность отклонений (d), доверительный интервал (tm_d) при $p=0,05$. В тексте численные значения представлены как $M \pm m$. Статистическую значимость различий независимых переменных определяли методом сравнения средних, а зависимых — методом разности отклонений по критерию Стьюдента; различия дисперсий оценивали по F-критерию Фишера. Статистическая значимость различий значений принималась при $p < 0,05$. Для определения индивидуальных особенностей отклонений параметров ЭКГ при ОГ использован кластерный анализ с автоматическим разбиением на 2 кластера.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлено, что в состоянии покоя параметры ЭКГ (табл.) в группах n_1 и n_2 по средним величинам и дисперсиям, как и SpO₂ (97,9±0,12 и 98,0±0,13%), статистически значимо не различались ($p > 0,05$), что указывает на однородность и возможность их сопоставления в реакциях на разные ОГ-воздействия. Исключение составляют отличия по CO (56,0±2,82 мл/кг · мин⁻¹ и 69,9±4,35 мл/кг · мин⁻¹ ($p=0,009$) соответственно).

Кластерный анализ отклонений параметров ЭКГ относительно покоя позволил разбить каждую выборку на 2 кластера, которые в разные периоды ОГ лёгкой и средней степени отличались по реакции и количественному составу лиц за счёт изменения типа реакции с увеличением длительности ОГ. Для описания результатов принято условие: 1-й кластер отличается от 2-го меньшим отклонением параметров ЭКГ, поэтому он определён как тип «низкой» реакции, а 2-й кластер — тип «высокой» реакции на ОГ (рис. 1).

На 5-й минуте легкой ОГ (14,5% O₂) (рис. 1) доминирует количество лиц 1-го (25 из 30 человек, 83%) кластера относительно 2-го (5 человек, 17%). У лиц 1-го кластера статистически значимо увеличивался зубец P₁II ($p=0,048$), уменьшались RII ($p=0,033$), суммарная BA_L ($p=0,021$), BA_R ($p=0,007$) отделов сердца и интервал Q–T ($p=0,039$), остальные параметры ЭКГ не изменялись ($p > 0,05$) относительно покоя. Во 2-м кластере более существенно уменьшались суммарная BA_L отдела сердца ($p=0,002$), интервалы R–R ($p=0,02$) и Q–T ($p=0,016$). Величина CO статистически значимо ($p=0,017$) увеличивалась на 3,10±1,23 мл/кг · мин⁻¹ только у лиц 1-го кластера. При этом SpO₂ у лиц 1-го и 2-го кластеров статистически значимо уменьшалась ($p < 0,001$) на практически одинаковую величину (4,80±0,61 и 5,0±0,63% соответственно).

Таблица. Параметры электрокардиограммы в наблюдаемых группах в покое, $M \pm SD$

Table. Electrocardiogram parameters in the observed groups at rest ($M \pm SD$)

Параметр Parameter	$n_1=30$	$n_2=29$	t	p	F	p
P_{1II} , мВ P_{1II} , mV	0,116±0,037	0,128±0,043	-1,10	0,273	1,34	0,435
R_{II} , мВ R_{II} , mV	1,39±0,464	1,43±0,400	-0,38	0,701	1,34	0,443
T_{1II} , мВ T_{1II} , mV	0,360±0,126	0,360±0,100	-0,02	0,981	1,58	0,233
BA_L , мВ BA_L , mV	3,30±0,806	3,28±0,761	0,10	0,918	1,12	0,765
BA_R , мВ BA_R , mV	2,10±0,623	2,05±0,451	0,34	0,728	1,90	0,096
$R-R$, мс $R-R$, ms	931,0±148,4	866,7±170,9	1,53	0,131	1,32	0,455
$Q-T$, мс $Q-T$, ms	391,0±25,77	376,4±30,08	1,98	0,052	1,36	0,415

К 10-й минуте лёгкой ОГ у 10 человек (33%) из 1-го кластера изменялся тип реакции, и они перемещались во 2-й кластер, тем самым образуя две численно равных (по 50%) подгруппы (см. рис. 1). Анализ параметров ЭКГ у лиц 1-го кластера показал отсутствие значимых изменений. Во 2-м кластере существенно уменьшались суммарная BA_L ($p < 0,001$), интервалы $R-R$ ($p = 0,009$) и $Q-T$ ($p = 0,022$). В обоих кластерах CO значимо не изменялся ($p > 0,05$). Оксигенация крови статистически значимо ($p < 0,001$) уменьшалась у лиц 1-го кластера — на $5,90 \pm 1,22\%$ и 2-го — на $6,10 \pm 0,93\%$.

На 20-й минуте лёгкой ОГ подгруппа 1-го кластера стала составлять 22 человека (73%), а 2-го — 8 человек (27%), в основном за счёт перемещений из 2-го кластера. В 1-м кластере статистически значимо уменьшалась суммарная BA_R ($p = 0,020$) и увеличивался интервал $Q-T$ ($p = 0,002$), остальные параметры ЭКГ статистически значимо не изменялись относительно покоя (см. рис. 1). У лиц 2-го кластера значительно уменьшались лишь зубец T_{1II} ($p = 0,007$) и суммарная BA_L ($p < 0,001$). Отклонение величины CO в обоих кластерах ($-1,50 \pm 1,83$ и $4,20 \pm 1,97$) мл/кг · мин⁻¹ статистически значимо не изменялось ($p > 0,05$). В этих условиях SpO_2 статистически значимо уменьшалась ($p < 0,001$) в 1-м кластере — на $5,0 \pm 0,73\%$ и во 2-м — на большую величину ($10,0 \pm 1,13\%$).

Индивидуальный анализ принадлежности лиц к типам реакции (кластерам) при лёгкой ОГ показал, что из выборки $n_1=30$ большая часть (18 человек, 60%) отличалась стабильностью типа реакции на всём протяжении ОГ, а у 12 человек (40%) из выборки, в основном у лиц из 1-го кластера (11 человек, 36,7%), реакция обладала вариабельностью. Это и определяло разное число лиц в кластерах на отдельных этапах гипоксического воздействия.

Установлено, что при лёгкой ОГ между кластерами обнаруживались статистически значимые различия

отклонений параметров ЭКГ: на 5-й минуте — суммарной BA_L ($p < 0,001$); на 10-й минуте — суммарной BA_L ($p < 0,001$) и интервала $Q-T$ ($p = 0,031$); на 20-й минуте — зубцов R_{II} ($p = 0,047$), T_{1II} ($p = 0,016$), суммарной BA_L ($p < 0,001$), интервалов $R-R$ ($p = 0,035$) и $Q-T$ ($p = 0,008$) (рис. 2).

В условиях ОГ средней степени ($12,3\% O_2$) на 5-й минуте её воздействия в 1-й кластер вошло 62%, а во 2-й — 38% испытуемых ($n_2=29$) (рис. 2). В этот период только у лиц из 1-го кластера статистически значимо ($p = 0,029$) увеличивался зубец P_{1II} (см. рис. 2). При этом у лиц 1-го и 2-го кластеров с высокой степенью статистической значимости уменьшались зубцы R_{II} ($p < 0,001$ и $p < 0,001$), T_{1II} ($p < 0,001$ и $p < 0,001$), суммарная BA_L ($p = 0,004$ и $p < 0,001$) и BA_R ($p < 0,001$ и $p = 0,002$), интервалы $R-R$ ($p < 0,001$ и $p < 0,001$) и $Q-T$ ($p < 0,001$ и $p = 0,001$) соответственно. Производительность сердца (CO) статистически значимо увеличивалась у лиц 1-го кластера на $7,40 \pm 2,04$ мл/кг · мин⁻¹ ($p = 0,002$) и не изменялась у лиц 2-го кластера (на $4,8 \pm 4,07$) мл/кг · мин⁻¹ ($p > 0,05$) при отсутствии между ними значимых различий ($p > 0,05$). Оксигенация крови статистически значимо уменьшалась относительно покоя у лиц 1-го и 2-го кластеров на практически одинаковую ($p < 0,001$) величину ($11,40 \pm 0,96$ и $11,30 \pm 1,23\%$ соответственно).

На 10-й минуте средней ОГ уменьшалось количество лиц, входящих в 1-й кластер (27,6%) и увеличивалось — во 2-й (72,4%) (см. рис. 2). В этих условиях у лиц 1-го кластера статистически значимо уменьшались только зубцы R_{II} ($p = 0,006$), T_{1II} ($p = 0,006$) и суммарная BA_R ($p < 0,009$). У лиц 2-го кластера параметры ЭКГ (R_{II} , T_{1II} , BA_L , BA_R , $R-R$, $Q-T$) уменьшались с высокой степенью вероятности ($p < 0,001$). Величина CO существенно увеличивалась у лиц в 1-м — на $11,20 \pm 3,15$ мл/кг · мин⁻¹

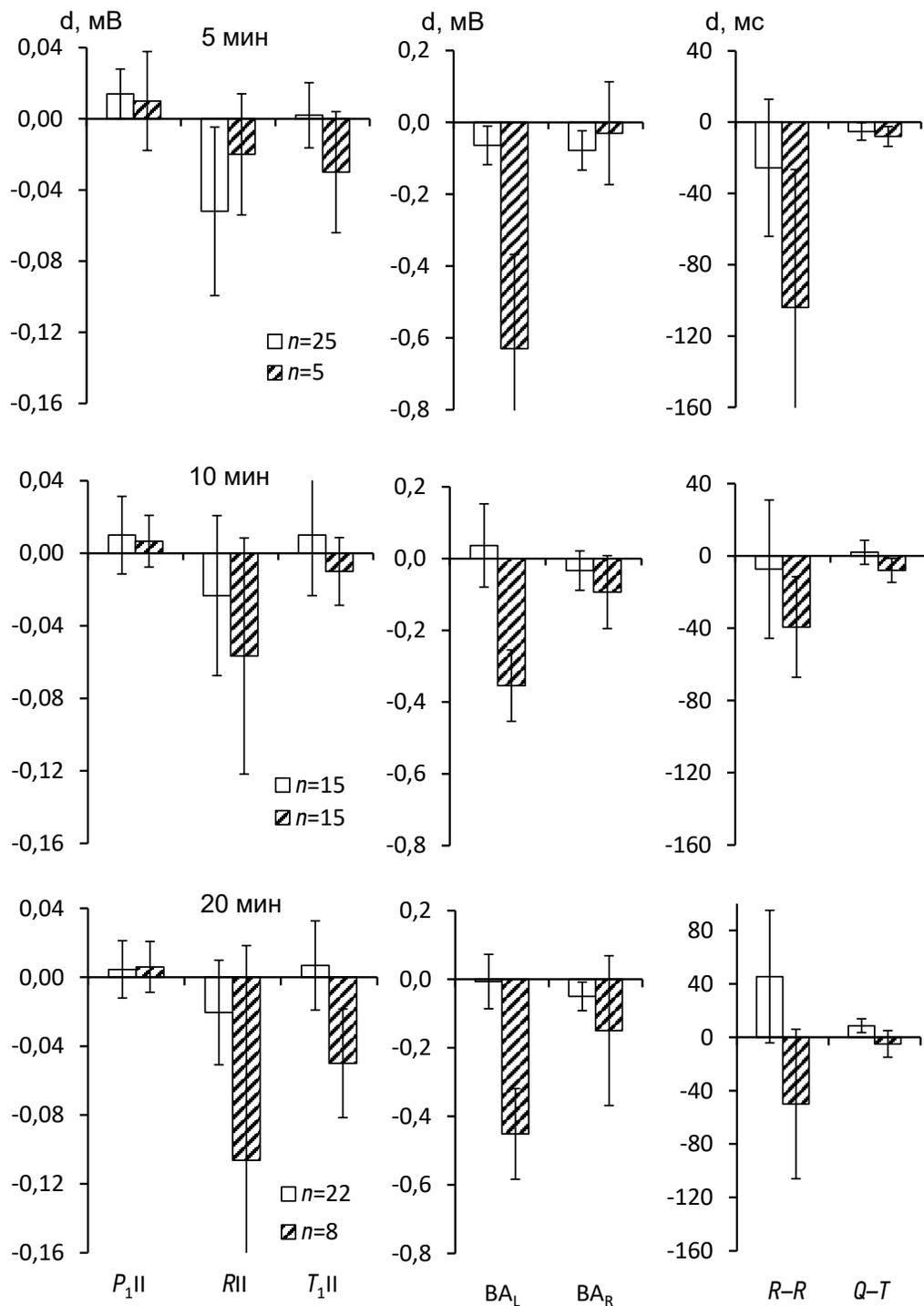


Рис. 1. Отклонения параметров электрокардиограммы относительно исходных в разные периоды лёгкой степени гипоксии (14,5% O_2) у лиц, входящих в 1-й (светлые столбики) и 2-й (заштрихованные столбики) кластеры ($Md \pm t_m$).

Fig. 1. Electrocardiogram parameters deviations relative to the initial ones at different periods of mild hypoxia (14.5% O_2) in persons included in the 1st (light bars) and 2nd (shaded bars) clusters ($Md \pm t_m$).

($p=0,009$) и во 2-м кластере — на $13,30 \pm 2,87$ мл/кг · мин⁻¹ ($p < 0,001$). Статистически значимо ($p < 0,001$) уменьшалась SpO_2 у лиц из 1-го ($16,90 \pm 1,28\%$) и 2-го ($14,70 \pm 0,98\%$) кластеров.

На 20-й минуте средней ОГ соотношение количества лиц в подгруппах изменилось: в 1-м кластере — 31%,

а во 2-м — 69% от выборки. В этот период у лиц из 1-го кластера существенно уменьшались зубцы R_{II} ($p=0,010$), T_{1II} ($p < 0,001$), суммарная BA_R ($p=0,020$), интервал $R-R$ ($p=0,017$) (см. рис. 2). Во 2-м кластере к таким же изменениям дополнились с высокой статистической значимостью уменьшения суммарной BA_L ($p < 0,001$) и интервала

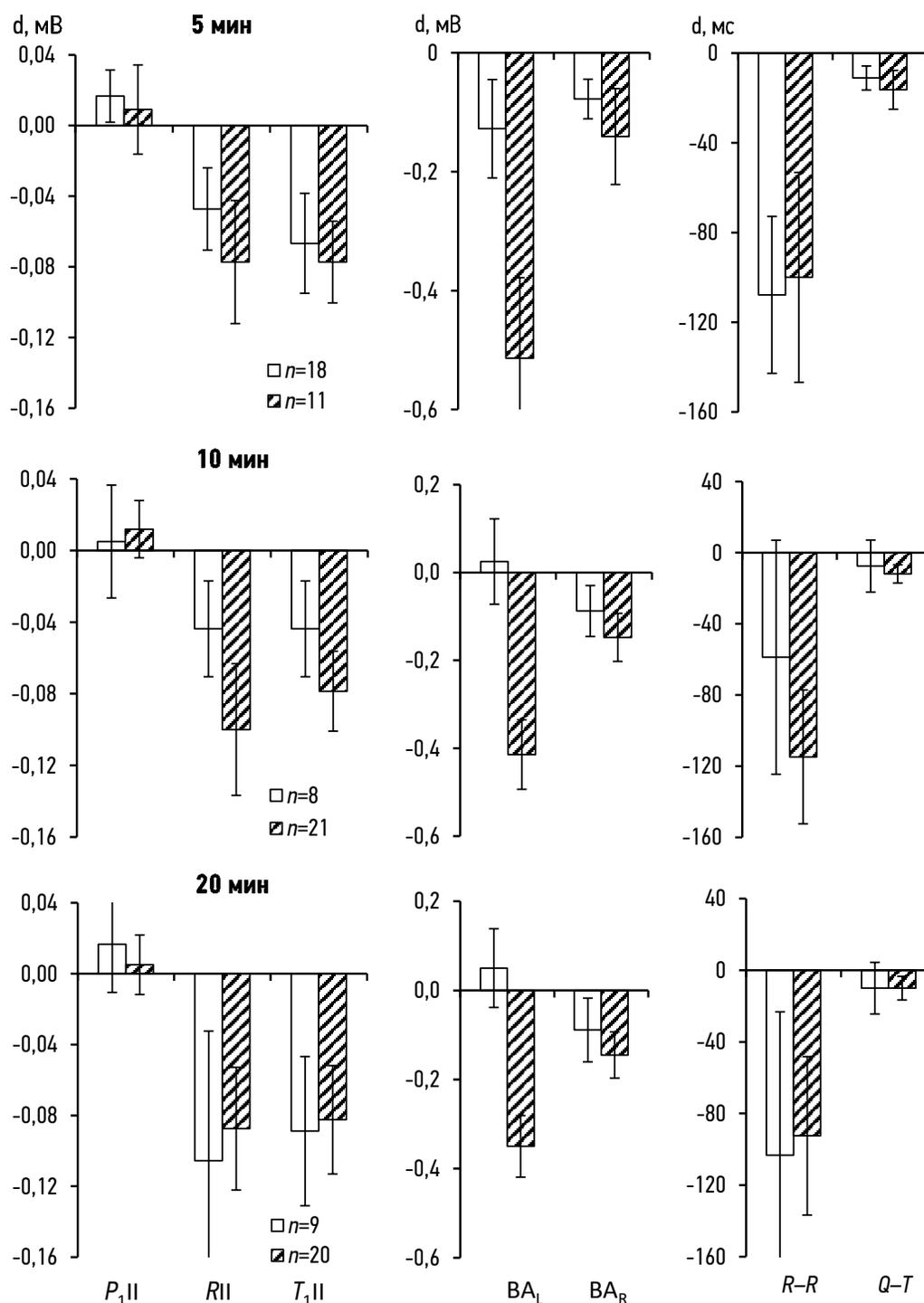


Рис. 2. Отклонения параметров электрокардиограммы относительно исходных на разных периодах средней степени гипоксии (12,3% O_2) у лиц, входящих в 1-й (светлые столбики) и 2-й (заштрихованные столбики) кластеры ($Md \pm tm_d$).

Fig. 2. Electrocardiogram parameters deviations relative to the initial ones at different periods of the medium degree of hypoxia (12.3% O_2) in persons included in the 1st (light bars) and 2nd (shaded bars) clusters ($Md \pm tm_d$).

$Q-T$ ($p=0,005$). Минутный объём кровообращения прирастал в 1-м кластере на $11,80 \pm 3,91$ мл/кг \cdot мин $^{-1}$ ($p=0,016$), а во 2-м кластере — на $8,40 \pm 2,70$ мл/кг \cdot мин $^{-1}$ ($p=0,034$). Всё это происходило на фоне статистически значимого ещё большего уменьшения SpO_2 ($p < 0,001$) у лиц 1-го ($20,0 \pm 2,04\%$) и 2-го ($19,6 \pm 1,08\%$) кластеров.

Таким образом, при средней ОГ из выборки ($n_2=29$) 16 человек (55,2%) отличались стабильным типом реагирования, а 13 исследуемых (44,8%), в основном представляющих 1-й кластер (12 человек, 41,4%), обладали изменчивостью типа реакции в динамике гипоксического воздействия. Определение различий отклонений

параметров ЭКГ между кластерами показало, что статистически значимые различия наблюдались только по суммарной BA_L сердца ($p < 0,001$) во все периоды действия гипоксии.

ОБСУЖДЕНИЕ

Кластерный анализ показал, что исследуемые группы ($n_1=30$ и $n_2=29$) по характеру сопряжённости отклонений параметров ЭКГ в ответ на ОГ лёгкой (14,5% O_2) и средней (12,3% O_2) степени выраженности чётно разбиваются на две подгруппы, которые изначально дифференцируются по отклонениям (суммарной BA левого отдела сердца, кардиоинтервала $R-R$ и электрической систолы желудочков) как подгруппы низкой и высокой реакции. Это в значительной степени повторяется во все периоды ОГ-воздействий. Видимо, такая неоднородность изменений биоэлектрических процессов сердца вне зависимости от степени выраженности ОГ может являться одним из признаков индивидуальной стратегии приспособительных механизмов ауто- и нейрогуморальной регуляции деятельности миокарда [13]. Причём такая индивидуальная стратегия регуляторных процессов с увеличением длительности гипоксических воздействий носит вариативный характер. Это подтверждается изменением состава и количества лиц в подгруппах с низкой и высокой реакцией с увеличением длительности обоих гипоксических воздействий, а также тем фактом, что при лёгкой ОГ только у 60% лиц, а при средней ОГ — у 55,2% сохраняется принадлежность к начальному типу реакции. Важно заметить, что в основном лица с начально низким уровнем реакции с увеличением длительности ОГ могут отвечать высокой реакцией, и только по одному человеку в группах обладают обратным реверсом реакции.

Установлено, что по мере действия ОГ лёгкой степени между подгруппами лиц с низкой и высокой реакцией повышается количество отличающихся по отклонению параметров ЭКГ: от одного (BA_L) на 5-й минуте до пяти (R_{II} , T_{II} , BA_L , $R-R$, $Q-T$) на 20-й минуте воздействия. В условиях ОГ средней степени различия ограничиваются одним параметром (BA_L). Известно, что с увеличением степени ОГ общая спектральная мощность ВСР направлена к уменьшению [6, 21, 22], а порог уменьшения вегетативной модуляции ритма сердца, по разным данным, лежит в пределах ОГ 14,5–9,8% O_2 [6]. Очевидно, с увеличением силы ОГ (до 12,3% O_2) и с развитием гипоксемии ослабляется вегетативный контроль и понижается точность регуляции биоэлектрических процессов сердца, что и обуславливает уменьшение вариативности и сближение характера отклонений параметров ЭКГ в наблюдаемых подгруппах.

Наблюдаемое нами большее уменьшение амплитудно-временных параметров ЭКГ при ОГ лёгкой и средней степени у лиц 2-го кластера сложно связать с их низкой устойчивостью к гипоксии, так как в 40,0 и 44,8% случаев

они в начальном периоде ОГ отвечали низкой реакцией, а также с отсутствием между подгруппами (1-й и 2-й кластеры) значимых различий по уровню отклонений производительности сердца (СО) и оксигенации крови. Есть указания [1], что для животных с низкой устойчивостью к гипоксии характерны выраженная экспрессия фактора $HIF-1\alpha$ в миокарде, переключение на сукцинатаксидазное окисление и понижение электрон-транспортной функции (митохондриального ферментного комплекса — МФК I). Замечено также, что во время ишемии (гипоксии) сердца уровень АТФ падает, открываются каналы K_{ATP} , чтобы уменьшить АДФ и предотвратить чрезмерную деполяризацию миокарда [23], сокращая продолжительность потенциала действия и поддерживая возбудимость кардиомиоцитов [24]. При этом наблюдаемые индивидуальные особенности отклонений параметров ЭКГ при ОГ могут быть связаны с изменчивой и разной активностью регуляторных каналов сердца [25, 26], находящихся под контролем симпатических и парасимпатических нервов, которые обладают секрецией норадреналина, ацетилхолина и АТФ, модулируя нервную передачу и автономный нервный контроль сердечных функций [25, 27–29].

Важно отметить, что хотя наблюдаемые изменения ЭКГ при лёгкой и средней степени ОГ и не выходят за пределы нормы, но могут предсказывать возможное развитие патологических явлений сердца, связанных с нарушением ритма, сердечной недостаточностью, гипертрофией и ишемией [11]. При этом наиболее чувствительными параметрами ЭКГ в исследуемом диапазоне гипоксических воздействий можно считать суммарную биоэлектрическую активность левого и правого отделов сердца, интервалы $R-R$ и электрическую систолу желудочков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При автоматическом разбиении групп лиц по отклонениям параметров ЭКГ выделяются подгруппы с низкой и высокой реакцией на ОГ 14,5 и 12,3% O_2 , которая отличается как минимум величиной уменьшения суммарной биоэлектрической активности левого отдела сердца и интервала $R-R$. При этом к 20-й минуте ОГ 14,5% O_2 между подгруппами нарастает количество отличающихся по отклонению параметров ЭКГ с одного (BA_L) до пяти (R_{II} , T_{II} , BA_L , $R-R$, $Q-T$), а при ОГ 12,3% O_2 всё ограничивается одним параметром (BA_L).

Установлено, что при ОГ 14,5% в 60% случаев от выборки ($n_1=30$) сохраняется тип реакции, а при ОГ 12,3% O_2 — только в 55,2% от выборки ($n_2=29$). Очевидно, что с увеличением длительности ОГ 14,5 и 12,3% O_2 для 40,0 и 44,8% случаев соответственно характерна вариация (реверс) изменения типа реакции параметров ЭКГ, которая в основном присуща лицам с изначально (на 5-й минуте) низкой реакцией.

Отсутствие отличий SpO_2 между подгруппами (кластерами) на разных периодах острой гипоксии (14,5 и 12,3% O_2)

указывает на независимость дифференциации отклонений параметров ЭКГ по типам реакции от развиваемой гипоксемии. Предполагается, что полученные данные могут использоваться в качестве критериев индивидуальной комплексной оценки реакции параметров ЭКГ у здорового человека в процессе действия ОГ лёгкой и средней степени.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFORMATION

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания (№ 122040600069-6).

Funding source. This work was supported by the Russian Federation Government (N 122040600069-6).

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта интересов.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Благодарности. Авторы выражают признательность выпускникам разных лет Сыктывкарского госуниверситета А.А. Илюшичеву и М.В. Коншиной за техническую помощь при проведении исследований.

Acknowledgments. The authors express their gratitude to graduates of different years of Syktyvkar state university: A.A. Ilyushichev and M.V. Konshina for technical assistance during the research.

Вклад авторов. М.И. Бочаров — концепция и дизайн исследования; получение, анализ и интерпретация данных; подготовка первого варианта статьи; переработка интеллектуального содержания; окончательное утверждение рукописи; А.С. Шилов — обработка данных, подготовка первых вариантов описания методов и результатов исследования, правки содержания статьи, утверждение рукописи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Author contribution. M.I. Bocharov — study concept and design; acquisition, analysis and interpretation of data; preparation of the first version of the article; intellectual content processing; final approval of the manuscript; A.S. Shilov — data processing, preparation of the first versions of the description of the methods and results of the study, editing the content of the article, approval of the manuscript. Thereby, all authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лукьянова Л.Д. Сигнальные механизмы гипоксии. Москва : Российская академия наук, 2019.
2. Newsholme P., De Bittencourt P.I.H., O'Hagan C., et al. Exercise and possible molecular mechanisms of protection from vascular disease and diabetes: the central role of ROS and nitric oxide // *Clin Sci (Lond)*. 2009. Vol. 118, N 5. P. 341–349. doi: 10.1042/CS20090433
3. Semenza G.L. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine // *Cell*. 2012. Vol. 148, N 3. P. 399–408. doi: 10.1016/j.cell.2012.01.021
4. Нестеров С.В. Особенности вегетативной регуляции сердечного ритма в условиях воздействия острой экспериментальной гипоксии // *Физиология человека*. 2005. Т. 31, № 1. С. 82–87. doi: 10.1007/s10747-005-0010-7
5. Boos C. J., Vincent E., Mellor A., et al. The effect of sex on heart rate variability at high altitude // *Med Sci Sports Exerc*. 2017, Vol. 49, N 12. P. 2562–2569. doi: 10.1249/MSS.0000000000001384
6. Giles D., Kelly J., Draper N. Alterations in autonomic cardiac modulation in response to normobaric hypoxia // *Eur J Sport Sci*. 2016. Vol. 16, N 8. P. 1023–1031. doi: 10.1080/17461391.2016.1207708
7. Li Y., Li J., Liu J., et al. Variations of time irreversibility of heart rate variability under normobaric hypoxic exposure // *Front Physiol*. 2021. Vol. 12. P. 607356. doi: 10.3389/fphys.2021.607356
8. Uryumtsev D.Y., Gulyaeva V.V., Zinchenko M.I., et al. Effect of acute hypoxia on cardiorespiratory coherence in male runners // *Front Physiol*. 2020. Vol. 11. P. 630. doi: 10.3389/fphys.2020.00630
9. Лесова Е.М., Самойлов В.О., Филиппова Е.Б., Савокина О.В. Индивидуальные различия показателей гемодинамики при сочетании гипоксической и ортостатической нагрузок // *Вестник российской военно-медицинской академии*. 2015. Т. 49, № 1. С. 157–163.
10. Саноцкая Н.В., Мацевский Д.Д., Лебедева М.А. Влияние острой гипоксии на легочное и системное кровообращение // *Патогенез*. 2012. Т. 10, № 4. С. 56–59.
11. Coustet B., Lhuissier F.J., Vincent R., et al. Electrocardiographic changes during exercise in acute hypoxia and susceptibility to severe high-altitude illnesses // *Circulation*. 2015. Vol. 131, N 9. P. 786–794. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.013144
12. Новиков В.С., Сороко С.И., Шустов Е.Б. Дезадаптационные состояния человека при экстремальных воздействиях и их коррекция. Санкт-Петербург : Политехника-принт, 2018.
13. Малкин В.Б., Гиппенрейтер Е.Б. Острая и хроническая гипоксия. Москва : Наука, 1977.
14. Агаджанян Н.А., Миррахимов М.М. Горы и резистентность организма. Москва : Наука, 1970.
15. Бочаров М.И., Шилов А.С. Организация биоэлектрических процессов сердца при разной степени острой нормобарической гипоксии у здоровых людей // *Экология человека*. 2020. Т. 27, № 12. С. 28–36. doi: 10.33396/1728-0869-2020-12-28-36
16. Волков Н.И. Прерывистая гипоксия — новый метод тренировки, реабилитации и терапии // *Теория и практика физической культуры*. 2000. Т. 7. С. 20–23.
17. Navarrete-Opazo A., Mitchell G.S. Therapeutic potential of intermittent hypoxia: a matter of dose // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2014. Vol. 307, N 10. R1181–R1197. doi: 10.1152/ajpregu.00208.2014
18. Инструментальные методы исследования сердечно-сосудистой системы: справочник / под ред. Т.С. Виноградовой. Москва : Медицина, 1986.

19. Турбасов В.Д., Артамонова Н.П., Нечаева Э.И. Оценка биоэлектрической активности сердца в условиях антиортостатической гипокинезии с использованием общепринятых и корригированных ортогональных отведений ЭКГ // *Космическая биология и авиакосмическая медицина*. 1990. Т. 24, № 1. С. 42–44.
20. Койчубеков Б.К., Сорокина М.А., Мхитарян К.Э. Определение размера выборки при планировании научного исследования // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2014. № 4. С. 71–74.
21. Millet G.P., Faiss R., Pialoux V. Last word on point: counterpoint: hypobaric hypoxia induces different responses from normobaric hypoxia // *J Appl Physiol* (1985). 2012. Vol. 112, N 10. P. 1795. doi: 10.1152/jappphysiol.00338.2012
22. Vigo D.E., Lloret S.P., Videla A.J., et al. Heart rate nonlinear dynamics during sudden hypoxia at 8230 m simulated altitude // *Wilderness Environ Med*. 2010. Vol. 21, N 1. P. 4–10. doi: 10.1016/j.wem.2009.12.022
23. Li Y., Gao J., Lu Z., et al. Intracellular ATP binding is required to activate the slowly activating K^+ channel I_{Ks} // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013. Vol. 110, N 47. P. 18922–18927. doi: 10.1073/pnas.1315649110
24. Kane G.C., Liu X.K., Yamada S., et al. Cardiac K_{ATP} channels in health and disease // *J Mol Cell Cardiol*. 2005. Vol. 38, N 6. P. 937–943. doi: 10.1016/j.yjmcc.2005.02.026
25. Аникина Т.А., Ситдииков Ф.Г. Пуринорецепторы сердца в онтогенезе. Казань : Типография ТГГПУ, 2011.
26. Vassort G. Adenosine 5'-triphosphate: a P2-purinergeric agonist in the myocardium // *Physiol Rev*. 2001. Vol. 81, N 2. P. 767–806. doi: 10.1152/physrev.2001.81.2.767
27. Burnstock G., Kind B.F. Numbering of cloned P2 purinoceptors // *Drug Development Research*. 1996. Vol. 38, N 1. P. 67–71. doi: 10.1002/(SICI)1098-2299(199605)38:1<67::AID-DDR9>3.0.CO;2-J
28. Burnstock G. Purinergic signaling // *Br J Pharmacol*. 2006. Vol. 147, N S1. P. S172–S187. doi:10.1038/sj.bjp.0706429
29. Pelleg A., Katchanov G., Xu J. Autonomic neural control of cardiac function: modulation by adenosine and adenosine 5'-triphosphate // *Am J Cardiol*. 1997. Vol. 79, N 12A. P. 11–14. doi: 10.1016/s0002-9149(9x)00257-5

REFERENCES

1. Lukyanova LD. *Signaling mechanisms of hypoxia*. Moscow: RAS, 2019. (In Russ).
2. Newsholme P, De Bittencourt PIH, O'Hagan C, et al. Exercise and possible molecular mechanisms of protection from vascular disease and diabetes: the central role of ROS and nitric oxide. *Clin Sci (Lond)*. 2009;118(5):341–349. doi: 10.1042/CS20090433
3. Semenza GL. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine. *Cell*. 2012;148(3):399–408. doi: 10.1016/j.cell.2012.01.021
4. Nesterov SV. Autonomic regulation of the heart rate in humans under conditions of acute experimental hypoxia. *Human Physiology*. 2005;(31):70–74. (In Russ). doi: 10.1007/s10747-005-0010-7
5. Boos CJ, Vincent E, Mellor A, et al. The effect of sex on heart rate variability at high altitude. *Med Sci Sports Exerc*. 2017;(49)12:2562–2569. doi: 10.1249/MSS.0000000000001384
6. Giles D, Kelly J, Draper N. Alterations in autonomic cardiac modulation in response to normobaric hypoxia. *Eur J Sport Sci*. 2016;16(8):1023–1031. doi: 1023–1031. doi: 10.1080/17461391.2016.1207708
7. Li Y, Li J, Liu J, et al. Variations of time irreversibility of heart rate variability under normobaric hypoxic exposure. *Front Physiol*. 2021;12:607356. doi: 10.3389/fphys.2021.607356
8. Uryumtsev DY, Gulyaeva VV, Zinchenko MI, et al. Effect of acute hypoxia on cardiorespiratory coherence in male runners. *Front Physiol*. 2020;11:630. doi: 10.3389/fphys.2020.00630
9. Lesova EM, Samoiloov VO, Filippova EB, Savokina OV. Individual differences of hemodynamics in terms of hypoxia and orthostatic stress. *Bulletin of the Russian Military medical academy*. 2015;(49)1:157–163. (In Russ).
10. Sanotskaya NV, Matsievsky DD, Lebedeva MA. Acute hypoxia influence on pulmonary and systemic blood circulation. *Pathogenesis*. 2012;(10)4:56–59. (In Russ).
11. Coustet B, Lhuissier FJ, Vincent R, et al. Electrocardiographic changes during exercise in acute hypoxia and susceptibility to severe high-altitude illnesses. *Circulation*. 2015;(131)9:786–794. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.013144
12. Novikov VS, Soroko SI, Shustov EB. *Desadaptation states of man to exposure to extreme conditions and their correction*. Sankt-Peterburg. Politehnika-print, 2018. (In Russ).
13. Malkin VB, Gippenreiter EB. *Acute and chronic hypoxia*. Moscow: Nauka, 1977. (In Russ).
14. Agadzhanian NA, Mirrakhimov MM. *Mountains and body resistance*. Moscow: Nauka, 1970. (In Russ).
15. Bocharov MI, Shilov AS. Bioelectric heart processes in healthy men at different levels of acute normobaric hypoxia. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2020;(27)12:28–36. (In Russ). doi: 10.33396/1728-0869-2020-12-28-36
16. Volkov NI. Intermittent hypoxia — a new method of training, rehabilitation, and therapy. *Theory and practice of physical culture*. 2000;(7):20–23. (In Russ).
17. Navarrete-Opazo A, Mitchell GS. Therapeutic potential of intermittent hypoxia: a matter of dose. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2014;(307)10:R1181–R1197. doi: 10.1152/ajpregu.00208.2014
18. *Instrumental methods for the study of the cardiovascular system: a reference*. Vinogradova TS, editors. Moscow: Meditsina, 1986. (In Russ).
19. Turbasov VD, Artamonova NP, Nechaeva EI. Assessment of the bioelectrical activity of the heart in conditions of antiorthostatic hypokinesia using conventional and corrected orthogonal ECG leads. *Space biology and aerospace medicine*. 1990;(24)1:42–44. (In Russ).
20. Koichubekov BK, Sorokina MA, Mkhitarян KE. Sample size determination in planning of scientific research. *International Journal of applied and fundamental research*. 2014;4:71–74. (In Russ).
21. Millet GP, Faiss R, Pialoux V. Last word on point: counterpoint: hypobaric hypoxia induces different responses from normobaric hypoxia. *J Appl Physiol* (1985). 2012;112(10):1795. doi: 10.1152/jappphysiol.00338.2012

22. Vigo DE, Lloret SP, Videla AJ, et al. Heart rate nonlinear dynamics during sudden hypoxia at 8230 m simulated altitude. *Wilderness Environ Med.* 2010;21(1):4–10. doi: 10.1016/j.wem.2009.12.022
23. Li Y, Gao J, Lu Z, et al. Intracellular ATP binding is required to activate the slowly activating K⁺ channel I_{Ks}. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(47):18922–18927. doi: 10.1073/pnas.1315649110
24. Kane GC, Liu XK, Yamada S, et al. Cardiac KATP channels in health and disease. *J Mol Cell Cardiol.* 2005;(38)6:937–943. doi: 10.1016/j.yjmcc.2005.02.026
25. Anikina TA, Sitdikov FG. *Purinoreceptors of the heart in ontogenesis.* Kazan, Printing house of TGSPU. 2011. (In Russ).
26. Vassort G. Adenosine 5'-triphosphate: a P₂-purinergic agonist in the myocardium. *Physiol Rev.* 2001;81(2):767–806. doi: 10.1152/physrev.2001.81.2.767
27. Burnstock G, Kind BF. Numbering of cloned P₂ purinoceptors. *Drug Development Research.* 1996;(38)1:67–71. doi: 10.1002/(SICI)1098-2299(199605)38:1<67::AID-DDR9>3.0.CO;2-28.
28. Burnstock G. Purinergic signaling. *Br J Pharmacol.* 2006;(147)S1:S172–S187. doi: 10.1038/sj.bjp.07064229.
29. Pelleg A, Katchanov G, Xu J. Autonomic neural control of cardiac function: modulation by adenosine and adenosine 5'-triphosphate. *Am J Cardiol.* 1997;79(12A):11–14. doi: 10.1016/s0002-9149(9x)00257-5

ОБ АВТОРАХ

***Бочаров Михаил Иванович**, д.б.н., профессор;
адрес: Россия, 167982, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 24;
ORCID: <https://0000-0001-6918-5523>;
eLibrary SPIN: 7435-1550; e-mail: bocha48@mail.ru

Шилов Александр Сергеевич,
ORCID: <https://0000-0002-0520-581X>;
eLibrary SPIN: 9039-4883; e-mail: shelove@list.ru

AUTHORS INFO

***Mihail I. Bocharov**, MD, Dr. Sci. (Biol.), professor;
address: 24 Kommunisticheskaja street, 167982, Syktyvkar,
Russia; ORCID: <https://0000-0001-6918-5523>;
eLibrary SPIN: 7435-1550; e-mail: bocha48@mail.ru

Aleksandr S. Shilov,
ORCID: <https://0000-0002-0520-581X>;
eLibrary SPIN: 9039-4883; e-mail: shelove@list.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco71477>

Возрастные изменения концентрации глюкозы, её метаболитов и активности аминотрансфераз у женщин и мужчин зрелого и пожилого возраста

Ф.А. Бичкаева, О.С. Власова, Б.А. Шенгоф, А.А. Бичкаев, Е.В. Нестерова, Н.И. Волкова

Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаверова, Архангельск, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Введение. Адаптация человека к условиям проживания в условиях Севера определяется его энергетическим статусом, в частности гомеостазом глюкозы, и активностью ряда ферментов — аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ).

Цель. Провести сравнительный анализ содержания глюкозы, лактата, пирувата, а также активности АСТ, АЛТ и величин их соотношения в разных возрастных группах мужчин и женщин — жителей приарктического региона, родившихся и постоянно проживающих в Архангельской области.

Материал и методы. В обсервационном поперечном неконтролируемом исследовании изучены различия в содержании параметров углеводного обмена и активности трансфераз между группами женщин и мужчин разных возрастов. Обследовано 437 женщин и 194 мужчины в возрасте от 21 до 74 лет. В сыворотке крови ферментативным методом определены содержание глюкозы, по реакции Триндера — концентрация лактата, методом Умбрайт — концентрация пирувата, унифицированным кинетическим методом — активность АСТ, АЛТ, рассчитан коэффициент де Ритиса (соотношение активности АСТ/АЛТ). Участников исследования разделили на группы по полу и возрасту: женщины 21–35, 36–45, 46–55, 56–74 лет; мужчины 22–35, 36–45, 46–60, 61–74 лет.

Результаты. Непараметрическое сравнение показало возрастное повышение содержания глюкозы в крови у женщин 46–55 лет при увеличении активности АСТ, АЛТ, у мужчин 61–74 лет при снижении активности АЛТ, что говорит о разных механизмах её повышения. Увеличение числа лиц с повышенной концентрацией глюкозы в крови натощак (преддиабетический уровень — 5,6–6,1 ммоль/л и выше нормы) в старших возрастных группах может служить подтверждением развития гипергликемии и быть причиной и/или следствием формирования инсулинорезистентности. Индивидуальный анализ величин коэффициента де Ритиса выявил во всех гендерных возрастных группах лиц с разными метаболическими потоками в гомеостазе глюкозы. С возрастом у 57,5; 66,7; 59,5 и 52,4% женщин, у 72,6; 63,2; 74,1 и 28,6% мужчин преобладали анаболические процессы, что при повышении концентрации глюкозы увеличивает риск развития инсулинорезистентности.

Заключение. Полученные данные об особенностях состояния углеводного обмена и аминотрансфераз у мужчин и женщин с учетом возраста могут использоваться для диагностических и превентивных мероприятий по сохранению здоровья жителей приарктического региона.

Ключевые слова: возраст; пол; глюкоза; лактат; пируват; аспартатаминотрансфераза; аланинаминотрансфераза; приарктический регион.

Как цитировать:

Бичкаева Ф.А., Власова О.С., Шенгоф Б.А., Бичкаев А.А., Нестерова Е.В., Волкова Н.И. Возрастные изменения концентрации глюкозы, её метаболитов и активности аминотрансфераз у женщин и мужчин зрелого и пожилого возраста // Экология человека. 2022. Т. 29, № 3. С. 187–197.

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco71477>

Получена: 10.06.2021

Принята: 20.02.2022

Опубликована: 13.06.2022

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco71477>

Age-related changes in the glucose level, its metabolites, and aminotransferases activity in women and men of mature and elderly age

Fatima A. Bichkaeva, Olga S. Vlasova, Boris A. Shengof, Artem A. Bichkaev, Ekaterina V. Nesterova, Natal'ya I. Volkova

N. Laverov Federal center for integrated Arctic research, Arkhangelsk, Russian Federation

ABSTRACT

BACKGROUND: Adaptation to living conditions in the North in humans is determined by the person's energy status — in particular glucose homeostasis, and the activity of several enzymes — aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT).

AIM: To conduct a comparative analysis of the levels of glucose, lactate, pyruvate, the activity of AST, ALT, and the ratio of different age groups in men and women residing in the subarctic region of the Arkhangelsk Region.

MATERIAL AND METHODS: This article is an observational cross-sectional uncontrolled study that accounts for the differences in the content of carbohydrate metabolism parameters and transferase activity between groups of women and men of different age periods. 437 women and 194 men aged 21–74 years, born and permanent residents of the Arkhangelsk region, were examined. The glucose content of the blood serum was determined by the enzymatic method, the lactate level was measured by the Trinder Reaction, the pyruvate level — by the Umbright Method, the activity of AST and ALT — by the unified kinetic method, and the values of the AST/ALT ratio (De Ritis ratio) were obtained. The study participants were divided into 4 age groups: women 21–35, 36–45, 46–55, 56–74 years, and men 22–35, 36–45, 46–60, and 61–74 years.

RESULTS: Non-parametric comparison showed an age-related increase in blood glucose in women aged 46–55 years accompanied by an increase in the activity of AST and ALT, while in men aged 61–74 years, there was a decrease in ALT. This indicates the presence of different mechanisms that accounts for its increase; an increase in the number of people with a critical glucose level (prediabetes — 5.6–6.1 mmol/l and above is normal) in older age groups can serve as a confirmation of the onset of hyperglycemia and could be the cause and/or consequence of the insulin resistance. An individual analysis of the De Ritis ratio showed individuals with different metabolic flows in glucose homeostasis in all gender and age groups. With age in 57.5; 66.7; 59.5 and 52.4% of women and in 72.6; 63.2; 74.1 and 28.6% of men, there were predominated anabolic processes, which, with an increase in glucose, increased the risk of insulin resistance.

CONCLUSIONS: The observed features of the state of carbohydrate metabolism and aminotransferases in men and women, taking into account their ages, can contribute to diagnostic and preventive measures aimed at preserving the health of the people living in the Arctic.

Keywords: age; sex; glucose; lactate; pyruvate; aspartate aminotransferase; alanine aminotransferase; subarctic region.

To cite this article:

Bichkaeva FA, Vlasova OS, Shengof BA, Bichkaev AA, Nesterova EV, Volkova NI. Age-related changes in the glucose level, its metabolites, and aminotransferases activity in women and men of mature and elderly age. *Ekologiya cheloveka [Human Ecology]*. 2022;29(3):187–197.

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco71477>

Submitted: 10.06.2021

Accepted: 20.02.2022

Published: 13.06.2022

ВВЕДЕНИЕ

Адаптация человека к условиям проживания определяется энергетическим статусом [1] и активностью ферментов, обеспечивающих его [1, 2]. Глюкоза относится к основным источникам энергии, а среди механизмов поддержания гликемии выделяют гликогенолиз и глюконеогенез. Постоянство гомеостаза глюкозы обеспечивается синхронной работой ряда ферментов, в числе которых — АСТ и АЛТ [2]. Ферментемия АСТ отражает интенсивность термогенеза и реакций катаболизма в обмене веществ, активность АЛТ является индикатором глюконеогенеза [2, 3], а величина АСТ/АЛТ отражает баланс реакций катаболизма и анаболизма в гомеостазе глюкозы [2].

Соотношение активности АЛТ и АСТ с концентрацией глюкозы исследовано в основном при заболеваниях, среди которых сахарный диабет 2-го типа (СД2) и неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) [3–5] — компоненты метаболического синдрома, имеющие в основе патогенеза инсулинорезистентность и абдоминальное ожирение. Отмечено [6], что распространённость СД2 имеет половые различия, зависящие от стадии репродуктивной жизни, что менопауза изменяет в гомеостазе глюкозы её эффективность, способность стимулировать собственное удаление, а к предикторам риска развития НАЖБП относят возраст старше 45–50 лет и половую принадлежность [4, 6]. В ранее проведенных исследованиях показаны гендерные различия в метаболизме глюкозы: у мужчин чаще отмечали повышение гликемии натощак, а у женщин — нарушение толерантности к глюкозе, но более интенсивную секрецию инсулина и чувствительность к нему [6, 7].

Концентрация глюкозы, лактата, пирувата, активность трансфераз, их соотношение у практически здорового (недиабетического) населения Архангельской области, проживающего на территории приарктического региона, остаются малоизученными. Их изучение может расширить представление о гендерных и возрастных особенностях обмена веществ.

Цель работы. Определить концентрацию глюкозы, лактата, пирувата, активность ферментов АСТ, АЛТ в крови с учётом возраста у женщин и мужчин — жителей приарктического региона, родившихся и постоянно проживающих в Архангельской области.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

С 2009 по 2019 год проведено обсервационное, поперечное, неконтролируемое исследование возрастного влияния на концентрацию глюкозы, лактата, пирувата, активность ферментов АСТ и АЛТ у женщин и мужчин зрелого (женщины 21–55 лет, мужчины 22–60 лет) и пожилого возраста (женщины 56–74, мужчины 61–74 лет), родившихся и постоянно проживающих в Архангельской области на территории приарктического региона. Эти

территории расположены ниже 66°33' с.ш., но по экстремальности природно-климатических условий приравнены к Крайнему Северу (постановление Правительства РФ от 27.11.1991 г. № 25 «Об отнесении городов и районов Архангельской области к районам Крайнего Севера и местностям, приравненным к районам Крайнего Севера»). Экспедиции для забора крови были организованы в весенний период (март–апрель), чтобы исключить влияние сезона и фотопериодики на изучаемые показатели.

Волонтеры выбраны случайным образом после медицинского осмотра и анкетирования среди лиц I–II групп здоровья. Группы были установлены по результатам диспансеризации (приказ МЗ СССР № 770 от 30.05.1986 г., приказ МЗ РФ № 1006н от 03.12.2012 г.) [8]. При анкетировании спрашивали количество полных лет. В выборку были включены волонтеры только с полным спектром рассматриваемых параметров. Соблюдены нормы и принципы биомедицинской этики (требования Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации 2010 года с изменениями 2013 года), все обследованные подписали форму добровольного согласия.

Критерии исключения: лица, состоящие на диспансерном учете у эндокринолога, и лица с острыми соматическими заболеваниями на момент исследования.

Содержание глюкозы, лактата, пирувата, активность АСТ, АЛТ определяли в сыворотке крови. Для этого утром натощак в вакутайнеры брали кровь из локтевой вены, затем в эппендорфы отбирали сыворотку и хранили замороженной до измерений. На биохимических анализаторах Furuno CA-270 (Furuno Electric CO, Япония), «БИАЛАБ-100» («Бианалитика», Россия) и Cary 50 Scan (Австралия) ферментативным методом с помощью наборов фирмы Chronolab AG (Швейцария) определяли содержание глюкозы (ммоль/л), по реакции Триндера — концентрацию лактата (ммоль/л), методом Умбрайт с 2,4 динитрофенилгидразином — концентрацию пирувата (ммоль/л), унифицированным кинетическим методом с использованием наборов линии «ДиаС» («ДИАКОН-ДС», Россия) — активность ферментов АСТ (ЕД/л) и АЛТ (ЕД/л). За физиологически оптимальные значения принимали нормативы соответствующих наборов. Контроль качества выполнения анализов осуществляли с применением контрольных сывороток Contro-N, Lot A 1004 для биохимических лабораторных исследований *in vitro* производства Chronolab Systemmcs.S.L. (Испания). Также был рассчитан коэффициент де Ритиса (величина АСТ/АЛТ), для которого значение 1,5 является оптимально-физиологическим, значения ниже 1,5 показывают на усиление анаболических реакций, а выше 1,5 — катаболических [2].

Для сравнительного анализа полученных значений в результате непропорциональной стратифицированной случайной многоступенчатой выборки были сформированы гендерные группы, а из них — возрастные: женщины 21–35 лет ($n=113$), 36–45 лет ($n=93$), 46–55 лет

($n=168$), 56–74 лет ($n=63$); мужчины 22–35 лет ($n=84$), 36–45 лет ($n=38$), 46–60 лет ($n=58$), 61–74 лет ($n=14$) лет [1, 9]. При формировании возрастных групп использовали схему возрастной периодизации (Москва, 1965) [10] с учетом особенностей морфологических и функциональных признаков у северян [11]. Для выявления тенденций в концентрации глюкозы женщин и мужчин в возрастных группах разделили по её значению на 4 подгруппы:

- глюкоза $<3,9$ ммоль/л — ниже нормы;
- $3,9 \leq$ глюкоза $\leq 5,6$ ммоль/л — норма;
- $5,6 <$ глюкоза $\leq 6,1$ ммоль/л — преддиабетический уровень [12];
- глюкоза $>6,1$ ммоль/л — выше нормы.

Статистический анализ результатов исследования проводили с применением пакета прикладных программ Microsoft Excel 2010 и SPSS 22.0 для Windows. Выборки проверяли на нормальность распределения (критерий Шапиро–Уилка) и, учитывая частичную асимметрию рядов распределения исследуемых показателей в группах, использовали методы непараметрической статистики. В качестве меры центральной тенденции были рассчитаны значения медианы (Me), а меры рассеяния — значения квартилей [25%; 75%]. Для предварительной оценки статистически значимых различий между независимыми выборками использовали непараметрический анализ Краскела–Уоллиса (H-тест). Сравнение независимых выборок проводили с помощью критерия Манна–Уитни (U-тест). Статистически значимыми считались изменения при вероятности ошибочного принятия нулевой гипотезы $p < 0,05$. Для коррекции вероятности ошибки 1-го типа при сравнении возрастных групп использовали поправку Бонферрони, равную 6 (для 6 сравнений).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате обследования лиц зрелого и пожилого возраста, родившихся и постоянно проживающих в приарктическом регионе Архангельской области (табл. 1), выявлено статистически значимое повышение концентрации глюкозы с возрастом у женщин — с 46 лет ($p_{1-3}=0,048$; $p_{1-4}, 2-4 < 0,001$; $p_{3-4}=0,03$), которое сопровождалось тенденцией к увеличению концентрации лактата ($p_{1-3}=0,084$), активности АСТ ($p_{1-3}=0,012$) и АЛТ ($p_{1-3}=0,012$).

У мужчин также наблюдалось нарастание концентрации глюкозы с возрастом, но статистически значимо — у пожилых лиц ($p_{1-4}=0,030$) на фоне снижения активности АЛТ ($p_{3-4}=0,078$) и повышения величины АСТ/АЛТ ($p_{2-4}, 3-4=0,084$; $0,042$).

Возрастных изменений содержания пирувата ни у кого из исследуемых не отмечено.

Анализ отклонений концентрации глюкозы от нормы внутри возрастных групп показал, что во всех группах, кроме мужчин 61–74 лет, отмечены лица с содержанием глюкозы меньше нормы ($<3,9$ ммоль/л), во всех — с преддиабетическим уровнем ($5,6 <$ глюкоза $\leq 6,1$ ммоль/л)

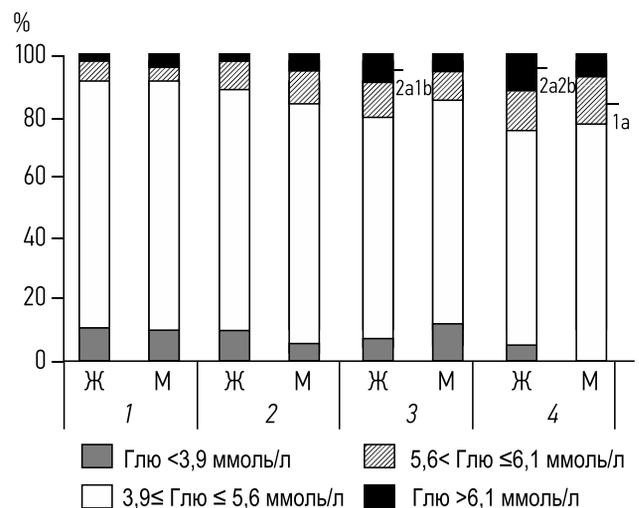


Рис. 1. Процентное распределение лиц по концентрации глюкозы в крови в возрастных подгруппах женщин и мужчин. Глю — глюкоза; Ж — женщины: 1 — возрастная группа 21–35 лет (а); 2 — 36–45 лет (б); 4 — 56–74 лет; М — мужчины: 1 — возрастная группа 22–35 лет (а); 2 — 36–45 лет (б); 4 — 61–74 лет. Различия в концентрации глюкозы между возрастными группами статистически значимы: 1, если $p < 0,05$; 2, если $p < 0,01$.

Fig. 1. Percentage distribution of individuals by blood glucose level in age subgroups of women and men. Glu — glucose; W — women: 1 — age group 21–35 years (a); 2 — 36–45 years (b); 4 — 56–74 years; M — men: 1 — age group 22–35 years (a); 2 — 36–45 years (b); 4 — 61–74 years. Differences in glucose concentration between age groups are statistically significant: 1, if $p < 0,05$; 2, if $p < 0,01$.

и с превышением нормы (глюкоза $>6,1$ ммоль/л) (рис. 1). При этом возрастные изменения содержания глюкозы у женщин были обусловлены нарастанием частоты регистрации величин, превышающих норму, — от 0,9 до 11,1% ($p_{1-3}=0,006$; $p_{1-4}=0,001$; $p_{2-3}=0,026$; $p_{2-4}=0,005$), а у мужчин — значений преддиабетического уровня — от 4,7 до 14,3% ($p_{1-4}=0,024$).

У значительной части волонтеров содержание лактата было выше нормы, причём процент таких лиц увеличился среди женщин 46–55 лет до 83,9% ($p_{1-3}=0,025$; $p_{3-4}=0,015$) и значимо — до 50% — снизился в группе мужчин 36–45 лет ($p_{1-2}=0,001$; $p_{2-3}=0,016$). При этом число лиц с содержанием пирувата в крови ниже нормы у женщин и мужчин с возрастом значимо не изменилось и составило в среднем 40,5% у женщин, 35,1% — у мужчин (рис. 2).

Возрастные изменения частоты встречаемости высокой активности трансфераз у женщин выразились для АСТ в регистрации минимума в возрастной группе 21–35 лет: 12,4% случаев против 30,1–31,5% в остальных группах ($p_{2,3,4}=0,001$; $0,001$; $0,004$), а для АЛТ — максимума в группе 36–45 лет — в 20,4% случаев ($p_{1-2}=0,009$).

Анализ индивидуальных значений АСТ/АЛТ, в отличие от Me, показал, что во всех возрастных группах независимо от пола есть волонтеры с разными метаболическими

Таблица 1. Сравнительная характеристика параметров углеводного обмена и ферментов АСТ, АЛТ, коэффициента АСТ/АЛТ у жителей приарктического региона, родившихся и постоянно проживающих в Архангельской области, с учетом возраста и пола, Ме [25%; 75%]

Table 1. Comparative characteristics of parameters of carbohydrate metabolism and enzymes AST, ALT, ratio AST/ALT in residents of the Arkhangelsk region, born and permanently residing in the Arkhangelsk region, taking into account age and sex, Me [25%; 75%]

Показатели, норма	Пол	Возрастные группы				Н-тест, <i>p</i>
		1	2	3	4	
Количество человек	Ж	113	93	168	63	
	М	84	38	58	14	
Возраст, годы	Ж	28,96 [25,0; 32,0]	40,88 [38,0; 44,0]	50,62 [48,0; 53,0]	60,56 [56,0; 64,0]	
	М	29,45 [26,0; 33,0]	40,66 [38,0; 44,0]	51,36 [48,0; 54,0]	64,79 [62,0; 70,0]	
Глюкоза, норма: 3,9–6,1 ммоль/л	Ж	4,64 [4,23; 5,07]	4,82 [4,30; 5,30]	4,87 [4,42; 5,32]	5,15 [4,80; 5,57]	23,67 <0,001
	М	4,71 [4,30; 5,30]	4,97 [4,44; 5,40]	4,86 [4,32; 5,26]	5,35 [4,82; 5,72]	9,16 0,027
Лактат, норма: 0,44–2,2 ммоль/л	Ж	2,80 [2,10; 3,38]	2,78 [2,11; 3,81]	2,93 [2,33; 3,81]	2,67 [2,02; 3,27]	8,48 0,037
	М	3,02 [2,30; 3,81]	2,23 [1,78; 3,50]	2,61 [2,16; 3,40]	2,98 [2,31; 3,80]	7,39 0,063
Пируват, норма: 0,03–0,1 ммоль/л	Ж	0,031 [0,027; 0,036]	0,031 [0,027; 0,037]	0,032 [0,026; 0,04]	0,032 [0,028; 0,036]	3,01 0,38
	М	0,032 [0,026; 0,038]	0,031 [0,025; 0,038]	0,034 [0,029; 0,042]	0,033 [0,03; 0,038]	5,43 0,169
АСТ, норма: Ж — до 31, М — до 38, ЕД/л	Ж	23,9 [18,28; 28,60]	26,40 [21,26; 32,20]	27,20 [20,42; 32,17]	24,50 [19,10; 33,30]	11,03 0,012
	М	22,56 [15,20; 31,15]	21,84 [13,72; 30,62]	24,98 [17,12; 35,02]	25,60 [18,72; 32,85]	1,33 0,711
АЛТ, норма: Ж — до 31, М — до 40, ЕД/л	Ж	17,2 [13,40; 22,35]	21,60 [15,10; 27,70]	20,15 [16,04; 26,60]	19,7 [12,80; 26,80]	10,91 0,012
	М	17,65 (12,25; 24,95]	17,15 (11,22; 30,72]	22,15 (15,35; 30,50]	15,50 (10,90; 20,02]	7,06 0,070
АСТ/АЛТ, норма: 1,5 у.е.	Ж	1,39 [1,04; 1,74]	1,29 [0,94; 1,63]	1,37 [0,89; 1,74]	1,43 [0,85; 1,88]	1,08 0,780
	М	1,21 [0,95; 1,65]	1,12 [0,78; 1,52]	1,17 [0,85; 1,61]	1,76 [1,34; 2,22]	8,44 0,038

Примечание: возрастные группы: женщины (Ж): 1 — 21–35 лет; 2 — 36–45 лет; 3 — 46–55 лет; 4 — 56–74 лет; мужчины (М): 1 — 22–35 лет; 2 — 36–45 лет; 3 — 46–60 лет; 4 — 61–74 лет. АСТ — аспаратаминотрансфераза; АЛТ — аланинаминотрансфераза. Н-тест — критерий Краскела–Уоллиса; различия статистически значимы при $p < 0,05$.

Note: Age groups were the following: female (F): group 1 (21–35 years), group 2 (36–45 years), group 3 (46–55 years), and group 4 (56–74 years); male (M): group 1 (22–35 years), group 2 (36–45 years), group 3 (46–60 years), and group 4 (61–74 years). AST is aspartate aminotransferase, ALT is alanine aminotransferase, H-test is Kruskal–Wallis test. The differences are considered significant at $p < 0,05$.

потоками в гомеостазе глюкозы (со значениями АСТ/АЛТ больше и меньше 1,5). Кроме того, во всех возрастных группах женщин, а также мужчин до 61 года лица с АСТ/АЛТ <1,5 составили больше половины, а у мужчин пожилого возраста их количество снизилось до 28,6% (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Отмечено влияние возраста и пола на метаболизм глюкозы у женщин и мужчин — жителей приарктического региона, родившихся и постоянно проживающих в Архангельской области.

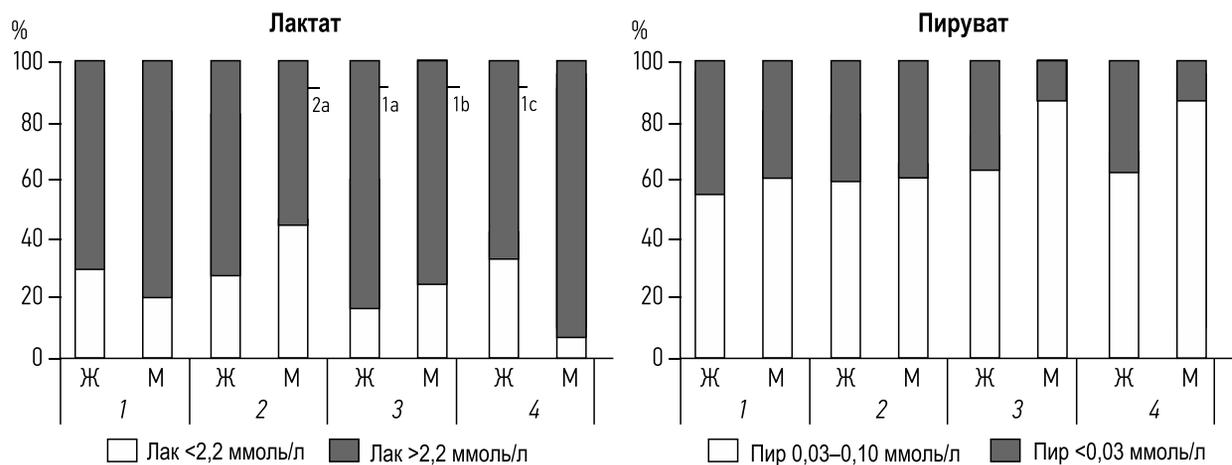


Рис. 2. Процентное распределение лиц по концентрации лактата и пирувата в крови в возрастных группах женщин и мужчин. Лак — лактат; Пир — пируват; Ж — женщины: 1 — возрастная группа 21–35 лет (а); 2 — 36–45 лет (б); 3 — 46–55 лет (с); 4 — 56–74 лет; М — мужчины: 1 — возрастная группа 22–35 лет (а); 2 — 36–45 лет (б); 3 — 46–60 лет (с); 4 — 61–74 лет. Различия в концентрации глюкозы между возрастными группами статистически значимы: 1, если $p < 0,05$; 2, если $p < 0,01$.

Fig. 2. Percentage distribution of individuals by the level of lactate and pyruvate in the blood in the age groups of women and men. Lac — lactate; Pir — pyruvate; W — women: 1 — age group 21–35 years (a); 2 — 36–45 years (b); 3 — 46–55 years (c); 4 — 56–74 years; M — men: 1 — age group 22–35 years (a); 2 — 36–45 years (b); 3 — 46–60 years (c); 4 — 61–74 years. Differences in glucose concentration between age groups are statistically significant: 1, if $p < 0,05$; 2, if $p < 0,01$.

Во-первых, во время проведенного исследования содержание глюкозы у волонтеров чаще соответствовало её концентрации у практически здоровых жителей средней полосы (средние и выше средних в пределах референсного интервала значения глюкозы) [13, 14], а не параметрам «полярного метаболического типа» со склонностью к гипогликемии, установленной у северян ранее [1, 15].

Возрастное повышение концентрации глюкозы в крови у женщин наступило раньше — с 46 лет, тогда как у мужчин — в пожилом возрасте. При этом отмеченное у женщин статистически значимое увеличение активности АСТ, АЛТ в группах 36–45 и 46–55 лет и, наоборот, статистически значимое снижение активности АЛТ у мужчин 61–74 лет свидетельствует о различных механизмах повышения концентрации глюкозы в крови. Если учесть, что этот уровень поддерживается реакциями гликогенолиза и глюконеогенеза [2], активность АСТ отражает интенсивность реакций катаболизма, а АЛТ — глюконеогенеза [2, 3], то у женщин повышение концентрации глюкозы в крови связано с усилением глюконеогенеза и гликогенолиза, а у мужчин — с сохранением активности гликогенолиза. Вместе с тем при большей секреции инсулина и чувствительности к нему у женщин, отмеченной ранее [6], установленное нами повышение концентрации глюкозы и активности АСТ и АЛТ может быть также связано с нарушением толерантности к глюкозе [7], а у мужчин при снижении ферментативной активности АЛТ и повышении коэффициента де Ритиса, вероятно, с усилением катаболических процессов, например липолиза [16]. При этом у мужчин зрелого возраста Me величины коэффициента де Ритиса ниже 1,3 может говорить об активном переходе белков в углеводы через глюкозо-аланиновый шунт [17].

Во-вторых, в нашем исследовании обнаружена высокая концентрация лактата в крови. У 74,2% мужчин и 75,2% женщин его содержание превышало норму, а у остальных волонтеров было смещено к её верхней границе. Также отмечено увеличение процента лиц с превышением нормы лактата при значимом повышении концентрации глюкозы в крови: у женщин 46–55 лет — до 83,9%, у мужчин 61–74 лет — до 92,9%. Выявленные нами изменения в содержании лактата могут быть связаны с повышением роли глюкозы в энергообмене, так как лактат — промежуточный продукт её анаэробного гликолиза, при котором образуется окисленный НАД⁺-кофермент, необходимый для реализации цикла трикарбоновых кислот в аэробном образовании энергии [18, 19]. Кроме того, это может быть вызвано недостаточной утилизацией лактата, несмотря на показанную интенсификацию глюконеогенеза с возрастом у женщин, поскольку лактат не только является субстратом для ресинтеза глюкозы, но и вовлекается в энергетический обмен клеток, в том числе непосредственно окисляясь в митохондриях [9, 19]. Меньшее использование лактата как источника энергии может быть обусловлено активным течением гликолиза, снижающегося, однако, с возрастом, и растущим вкладом жиров как энергоносителей. При этом лактат как биоактивный метаболит позволяет инсулинзависимым тканям использовать альтернативные источники энергии, например свободные жирные кислоты (СЖК), вследствие снижения транспортной эффективности инсулина [20, 21], что отмечено при долгосрочном повышении лактата в крови [16]. Ранее установлено также, что подавление лактатом эффектов инсулина ингибирует катализ пирувата до конечных продуктов и усиливает

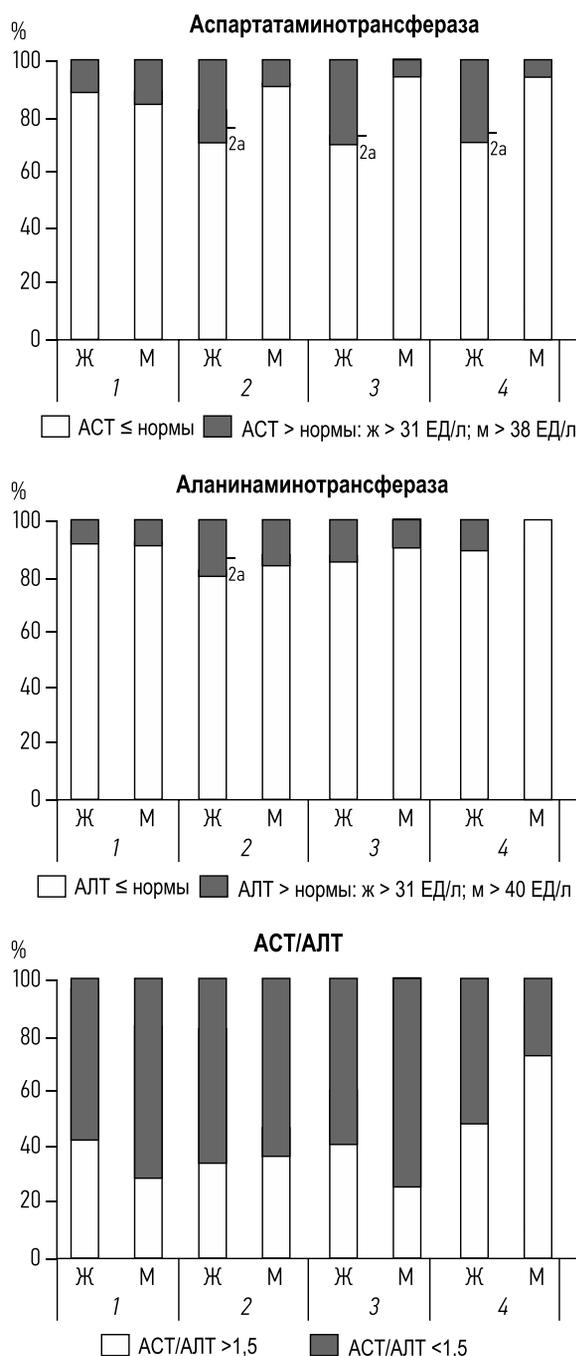


Рис. 3. Процентное распределение лиц по активности аспаратаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) в крови и по величине ее соотношений в возрастных группах женщин и мужчин. Ж — женщины: 1 — возрастная группа 21–35 лет (а); 2 — 36–45 лет; 3 — 46–55 лет; 4 — 56–74 лет; М — мужчины: 1 — возрастная группа 22–35 лет (а); 2 — 36–45 лет; 3 — 46–60 лет; 4 — 61–74 лет. Различия в концентрации глюкозы между возрастными группами статистически значимы: 1, если $p < 0,05$; 2, если $p < 0,01$.

Fig. 3. Percentage distribution of individuals by the activity of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) in the blood and by the value of its correlations in the age groups of women and men. W — women: 1 — age group 21–35 years (a); 2 — 36–45 years; 3 — 46–55 years; 4 — 56–74 years; M — men: 1 — age group 22–35 years (a); 2 — 36–45 years (b); 3 — 46–60 years; 4 — 61–74 years. Differences in between age groups are statistically significant: 1, if $p < 0.05$; 2, if $p < 0.01$.

превращение пирувата в лактат [22]. Вероятно, в связи с этим концентрация пирувата в крови в нашем исследовании смещена к нижней границе нормы и ниже неё у значительного числа волонтеров независимо от возраста и пола. В более ранних исследованиях [15, 22] снижение концентрации пирувата у северян также связывали с метаболизмом СЖК. Стоит отметить, что повышение концентрации лактата и снижение концентрации пирувата наблюдают при гипоксических состояниях и заболеваниях, в том числе считают важным маркером тяжести СД [23], т.е. у части обследованного нами контингента в дальнейшем возможно развитие этой патологии.

Кроме того, существенную роль в обмене веществ играет характер питания [1]. При этом модификация социального уклада жизни северян с изменением структуры питания в сторону преобладания доли углеводов и жиров и уменьшения доли белков за счет меньшего потребления морепродуктов может изменять функционирование метаболических путей и активность ферментных систем [24], в том числе приводить к снижению регистрации гипогликемических состояний и возрастному повышению концентрации глюкозы. Последнее может быть связано также и со снижением двигательной активности с возрастом (в целом для населения Севера разных возрастных групп отмечено распространение гиподинамии) [25].

Рядом исследователей [5, 26] подтверждены связи незначительного повышения активности АЛТ (в пределах нормы) с частотой дисгликемий и со снижением чувствительности к инсулину. Вместе с тем в этих исследованиях отмечено, что соотношение АСТ/АЛТ нагляднее, чем индивидуальная активность АСТ и АЛТ, отражает характер энзимологических сдвигов и катаболический или анаболический характер обмена веществ, поддерживающий концентрацию глюкозы в крови [2]. Сравнение независимых выборок в нашем исследовании показало смещение обмена веществ при обеспечении гомеостаза глюкозы в сторону катаболических реакций лишь у мужчин 61–74 лет (АСТ/АЛТ >1,5), а в остальных возрастных группах мужчин и во всех возрастных группах женщин, наоборот, — в сторону анаболических реакций (АСТ/АЛТ <1,5). Таким образом, у пожилых мужчин-северян значимо более высокий коэффициент де Ритиса, характеризующийся активным поступлением метаболитов в цикле трикарбоновых кислот, свидетельствует о напряженности энергетических процессов, и повышенные энергетические затраты в этой группе могут привести к истощению функциональных резервов организма [17].

В суровых климатогеографических условиях Севера характеристики «полярного метаболического типа» тесно сопряжены и с особенностями энергообеспечения, и с функцией печени, при этом снижение функциональных возможностей гепатоцитов по метаболизму жиров и детоксикации чужеродных веществ эндогенного и экзогенного происхождения является одним из механизмов

развития дизадаптивных расстройств у северян [27]. У них ранее выявлялось увеличение печени, трактовавшееся как нормальное явление вследствие компенсаторной гиперфункции печёночной ткани, а данные обследования пришлого населения на ранних сроках акклиматизации свидетельствовали о напряжённой функции печени [27]. Однако в современных реалиях при изменении качественной структуры питания, снижении двигательной активности можно говорить об истощении резервных возможностей печени и как следствие — о нарастании в крови концентрации СЖК, триглицеридов, холестерина и атерогенных фракций липидов [27], а поскольку печень является ещё и органом-мишенью, атерогенная дислипидемия может выразиться в развитии НАЖБП. Нами не проводились инструментальные исследования печени, но тем не менее обследованный контингент пожилого возраста можно отнести к группе риска развития жирового гепатоза — начальной стадии НАЖБП — вследствие значимого повышения концентрации глюкозы, а также выявленного нами нарастания концентраций жирных кислот, величин ИМТ [28] на фоне возрастного истощения функциональной и рецепторной активности β -клеток поджелудочной железы и формирования инсулинорезистентности [29], несмотря на отсутствие значимого увеличения активности трансаминаз. Ведь начальные стадии гепатоза могут долгое время протекать без клинических изменений показателей крови, и первичными звеньями патогенеза этого заболевания выступают ожирение и сопряжённое с ним избыточное накопление СЖК и триглицеридов в печени, а также инсулинорезистентность, зачастую независимо от ожирения создающая предпосылки для повреждения печени [4]. Формирование у человека жирового гепатоза и инсулинорезистентности может привести к метаболическому синдрому и СД2.

Ограничения исследования. Положительной стороной нашей работы является представление спектра показателей углеводного обмена и активности аминотрансфераз, а также исследование групп женщин и мужчин с учетом их возраста. Недостатком работы можно считать малое количество обследованных мужчин в возрастной группе 61–74 лет. В то же время результаты работы позволяют получить представление о некоторых особенностях изученных параметров у женщин и мужчин в возрастном аспекте и предложить использовать их в качестве платформы для проведения диагностических и превентивных мероприятий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установленные нами изменения в содержании глюкозы и её метаболитов в сторону верхнего предела нормы, а лактата — к верхней границе норматива и выше него — указывают на определённую перестройку обмена веществ в сторону дизадаптации у жителей приарктического региона, родившихся и постоянно проживающих

в Архангельской области. Увеличение концентрации глюкозы в крови с возрастом (до преддиабетического уровня и выше нормы) среди практически здоровых участников исследования зрелого и пожилого возраста (от 8,0 до 23,8% у женщин и от 8,4 до 21,4% у мужчин) свидетельствует о повышенном риске развития патологических нарушений в её обмене (СД2, метаболический синдром, жировой стеатоз). А различия в активности АЛТ и АСТ при повышении содержания глюкозы в крови (увеличение у женщин активности трансаминаз в группах 36–45 и 46–55 лет, у мужчин — величины коэффициента де Ритиса в пожилом возрасте) отражают усиление анаболических или катаболических процессов в её метаболизме: у женщин положительная возрастная динамика связана с усилением глюконеогенеза и гликогенолиза, у мужчин — с сохранением активности гликогенолиза и усилением катаболических процессов (липолиза). При этом величина соотношения АСТ и АЛТ позволяет не только определить характер энзимологического сдвига, его силу (по величине отклонения от значений, отражающих баланс АСТ/АЛТ=1,5), но и сориентироваться в направлении изменений в обмене веществ.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFORMATION

Финансирование. Работа выполнена в соответствии с планом Федерального исследовательского центра комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаврова Уральского отделения Российской академии наук по теме «Эндокринное обеспечение и характер питания в формировании адаптивных изменений в липидном обмене у различных групп населения Арктики на современном этапе» (номер государственной регистрации — 122011800399-2).

Funding source. The study prepared with foundation from N. Laverov Federal center for integrated Arctic research of the Ural branch of the Russian academy of sciences within the programme “Endocrine support and the nature of nutrition in the formation of adaptive changes in lipid metabolism in various groups of the Arctic population at the present stage” (state registration number — 122011800399-2).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Competing interests. The authors declare that there is no conflict of interest.

Вклад авторов. Наибольший вклад распределён следующим образом: Ф.А. Бичкаева — организация и дизайн исследования, редакция и утверждение окончательного варианта статьи; О.С. Власова — подготовка и редакция окончательной версии статьи; Б.А. Шенгоф, А.А. Бичкаев, Е.В. Нестерова — сбор и анализ данных; Н.И. Волкова — подготовка первого варианта статьи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Authors contribution. The greatest contribution is distributed as follows: F.A. Bichkaeva — organization and design of the study, revision and approval of the final version of the article; O.S. Vlasova — preparation and revision of the final version of the article; B.A. Shengof, A.A. Bichkaev, E.V. Nesterova — data collection and analysis;

N.I. Volkova — preparation of the first version of the article. All authors confirm that their authorship meets the international ICMJE criteria (all authors have made a significant contribution to the development of the concept, research and preparation of the article, read and approved the final version before publication).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Панин Л.Е. Гомеостаз и проблемы приполярной медицины (методологические аспекты адаптации) // Сибирский научный медицинский журнал. 2010. Т. 30, № 3. С. 6–11.
2. Рослый И.М. Биохимические показатели в медицине и биологии. М : Медицинское информационное агентство, 2015.
3. Vozarova B., Stefan N., Lindsay R.S., et al. High alanine aminotransferase is associated with decreased hepatic insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes // *Diabetes*. 2002. Vol. 51, N 6. P. 1889–1895. doi: 10.2337/diabetes.51.6.1889
4. Кособян Е.П., Смирнова О.М. Современные концепции патогенеза неалкогольной жировой болезни печени // Сахарный диабет. 2010. Т. 13, № 1. С. 55–64. doi: 10.14341/2072-0351-6018
5. Lorenzo C., Hanley A.J., Rewers M.J., Haffner S.M. Discriminatory value of alanine aminotransferase for diabetes prediction: the Insulin resistance atherosclerosis study // *Diabet Med*. 2016. Vol. 33, N 3. P. 348–355. doi: 10.1111/dme.12835
6. Tramunt B., Smati S., Grandgeorge N., et al. Sex differences in metabolic regulation and diabetes susceptibility // *Diabetologia*. 2020. Vol. 63, N 3. P. 453–461. doi: 10.1007/s00125-019-05040-3
7. Williams J.W., Zimmet P.Z., Shaw J.E., et al. Gender differences in the prevalence of impaired fasting glycaemia and impaired glucose tolerance in Mauritius. Does sex matter? // *Diabet Med*. 2003. Vol. 20, N 11. P. 915–920. doi: 10.1046/j.1464-5491.2003.01059.x
8. Бойцов С.А., Вылегжанин С.В., Гамбарян М.Г., и др. Организация проведения диспансеризации и профилактических медицинских осмотров взрослого населения: методические рекомендации: утв. Министерством здравоохранения РФ 1 февраля 2013 г. N14-1/10/2-568. Москва : Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины. Доступ по ссылке: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/70229844/> (дата обращения: 12.03.2021).
9. Мещерякова О.В., Чурова М.В., Немова Н.Н. Митохондриальный лактат-окисляющий комплекс и его значение для поддержания энергетического гомеостаза клеток. В кн.: Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов: сб. науч. статей. Петрозаводск : Карельский научный центр РАН, 2010. С. 163–171.
10. Хрисанфова Е.Н., Перевозчиков И.В. Антропология. Москва : Изд-во Московского университета : Наука, 2005.
11. Ткачев А.В., Бойко Е.Р., Губкина З.Д., Раменская Е.Б., Суханов С.Г. Эндокринная система и обмен веществ у человека на Севере. Сыктывкар : Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук, 1992.
12. American Diabetes Association. 2. Classification and diagnosis of diabetes // *Diabetes Care*. 2017. Vol. 40, Suppl. 1. P. S11–S24. doi: 10.2337/dc17-S005
13. Груздева О.В., Паличева Е.И., Максимов С.А., и др. Гендерные и возрастные особенности концентрации в крови глюкозы и общего холестерина как факторы риска заболеваемости сердечно-сосудистой системы по результатам диспансеризации // Лабораторная служба. 2016. Т. 5, № 2. С. 15–21. doi: 10.17116/labs20165215-21
14. Тукин В.Н. Возрастные изменения биохимических показателей крови и их взаимосвязь с жесткостью мембран гемоглобинов у здоровых мужчин и женщин // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия естественные науки. 2012. Т. 3, № 122. С. 155–160.
15. Бойко Е.Р. Физиолого-биохимические основы жизнедеятельности человека на Севере. Екатеринбург : Уральское отделение РАН, 2005.
16. Miller B.F., Fattor J.A., Jacobs K.A., et al. Metabolic and cardiorespiratory responses to “the lactate clamp”. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2002. Vol. 283, N 5. P. E889–E898. doi: 10.1152/ajpendo.00266.2002
17. Кривошапкина З.Н., Миронова Г.Е., Семёнова Е.И., Олесова Л.Д. Биохимический спектр сыворотки крови как показатель адаптированности жителей Якутии к северным условиям // Экология человека. 2015. Т. 22, № 11. С. 19–24. doi: 10.33396/1728-0869-2015-11-25-32
18. Jacobs R.A., Meinild A.K., Nordsborg N.B., Lundby C. Lactate oxidation in human skeletal muscle mitochondria // *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2013. Vol. 304, N 7. P. E686–E694. doi: 10.1152/ajpendo.00476.2012
19. Schurr A. Chapter 2. Lactate, not pyruvate, is the end product of glucose metabolism via glycolysis. In: Caliskan M., editor. *Carbohydrate*. IntechOpen, 2017. P. 21–35. doi: 10.5772/66699
20. Chen Y.D., Varasteh B.B., Reaven G.M. Plasma lactate concentration in obesity and type 2 diabetes // *Diabetes Metab*. 1993. Vol. 19, N 4. P. 348–354.
21. Thorburn A.W., Gumbiner B., Bulacan F., Wallace P., Henry R.R. Intracellular glucose oxidation and glycogen synthase activity are reduced in non-insulin-dependent (type II) diabetes independent of impaired glucose uptake // *J Clin Invest*. 1990. Vol. 85, N 2. P. 522–529. doi: 10.1172/JCI114468
22. Кочан Т.И. Закономерности изменения показателей углеводного обмена в организме человека в зависимости от природных факторов Севера // Экология человека. 2006. № 10. С. 3–7.
23. Колесникова Л.И., Власов Б.Я., Колесников С.И., и др. Значения лактата, пирувата и их соотношений у пациентов с сахарным диабетом 1-го типа // Клиническая лабораторная диагностика. 2016. Т. 61, № 7. С. 405–407. doi: 10.18821/0869-2084-2016-7-405-407
24. Потеряева О.Н., Осипова Л.П., Русских Г.С., и др. Анализ содержания инсулина, кортизола и глюкозы в сыворотке крови

- поселковых жителей Ямало-Ненецкого автономного округа // Физиология человека. 2017. Т. 43, № 6. С. 103–108. doi: 10.7868/S013116461706008X
25. Корчина Т.Я., Сухарева А.С., Корчин В.И., и др. Обеспеченность витамином D женщин Тюменского Севера // Экология человека. 2019. Т. 26, № 5. С. 31–36. doi: 10.33396/1728-0869-2019-5-31-36
26. Higuchi I., Kimura Y., Kobayashi M., et al. Relationships between plasma lactate, plasma alanine, genetic variations in lactate transporters and type 2 diabetes in the Japanese population // Drug Metab Pharmacokinet. 2020. Vol. 35, N 1. P. 131–138. doi: 10.1016/j.dmpk.2019.10.001
27. Хаснулин В.И., Хаснулин П.В. Современные представления о механизмах формирования северного стресса у человека в высоких широтах // Экология человека. 2012. Т. 19, № 1. С. 3–11.
28. Bichkaeva F.A., Volkova N.I., Bichkaev A.A., et al. Correlations of the parameters of carbohydrate metabolism and saturated fatty acids in the blood serum of elderly people // Adv Gerontol. 2018. Vol. 8, N 4. P. 347–354. doi: 10.1134/S2079057018040033
29. Бичкаева Ф.А., Типисова Е.В., Волкова Н.И. Соотношение содержания инсулина, половых гормонов, стероидсвязывающего β -глобулина, параметров липидного обмена и глюкозы у мужского населения Арктики // Проблемы репродукции. 2016. Т. 22, № 2. С. 99–110. doi: 10.17116/repro201622299-110

REFERENCES

1. Panin LE. Homeostasis and problems of circumpolar health (methodological aspects of adaptation). *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal*. 2010;30(3):6–11. (In Russ).
2. Roslyy IM. *Biochemical parameters in medicine and biology*. Moscow: Medical Information Agency; 2015. (In Russ).
3. Vozarova B, Stefan N, Lindsay RS, et al. High alanine aminotransferase is associated with decreased hepatic insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002;51(6):1889–1895. doi: 10.2337/diabetes.51.6.1889
4. Kosobyan EP, Smirnova OM. Current concepts of the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *Diabetes mellitus*. 2010;13(1):55–64. (In Russ). doi: 10.14341/2072-0351-6018
5. Lorenzo C, Hanley AJ, Rewers MJ, Haffner SM. Discriminatory value of alanine aminotransferase for diabetes prediction: the Insulin resistance atherosclerosis study. *Diabet Med*. 2016;33(3):348–355. doi: 10.1111/dme.12835
6. Tramunt B, Smati S, Grandgeorge N, et al. Sex differences in metabolic regulation and diabetes susceptibility. *Diabetologia*. 2020;63(3):453–461. doi: 10.1007/s00125-019-05040-3
7. Williams JW, Zimmet PZ, Shaw JE, et al. Gender differences in the prevalence of impaired fasting glycaemia and impaired glucose tolerance in Mauritius. Does sex matter? *Diabet Med*. 2003;20(11):915–920. doi: 10.1046/j.1464-5491.2003.01059.x
8. Boytsov SA, Vylegzhanin SV, Gambaryan MG, et al. *Organization of medical examination and preventive medical examinations of the adult population: methodical recommendations: approved by the Ministry of Health of the Russian Federation of February 1, 2013 N14-1/10/2-568*. [Internet]. Moscow: State Research Center for Preventive Medicine; 2013 [cited March 12 2021] Available from: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/70229844/>
9. Meshcheryakova OV, Churova MV, Nemova NN. Mitochondrial lactate oxidation complex and its role for cell energy homeostasis. In: *Modern problems of physiology and biochemistry of aquatic organisms: digest of scientific articles*. Petrozavodsk: Karelian Scientific Center of RAS. 2010. P.163–171.
10. Khrisanfova EN, Carriers IV. *Anthropology*. Moscow: Izd-vo Moskovskogo universiteta, Nauka. 2005. (In Russ).
11. Tkachev AV, Boyko ER, Gubkina ZD, et al. *Endocrine system and metabolism in humans in the North*. Syktyvkar: Komi nauchnyi tsentr Ural'skogo otdeleniya Rossiiskoi akademii nauk; 1992. (In Russ).
12. American Diabetes Association. 2. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*. 2017;40(Suppl. 1):S11–S24. doi: 10.2337/dc17-S005
13. Gruzdeva OV, Palicheva EI, Maksimov SA, et al. Gender and age characteristics of glucose concentration in the blood and total cholesterol, a risk factor for cardiovascular diseases of results dispensary observation. *Laboratornaya sluzhba*. 2016;5(2):15–21. (In Russ). doi: 10.17116/labs20165215-21
14. Tukin VN. Age-dependent changes in biochemical indices of blood and their relationship with the stiffness of membranes of hemocytes in the blood of healthy men and women. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya estestvennyye nauki*. 2012;3(122):155–160. (In Russ).
15. Boiko ER. *Physiological and biochemical foundations of human life in the North*. Yekaterinburg: Ural Branch of RAS; 2005. (In Russ).
16. Miller BF, Fattor JA, Jacobs KA, et al. Metabolic and cardiorespiratory responses to "the lactate clamp". *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2002;283(5):E889–E898. doi: 10.1152/ajpendo.00266.2002
17. Krivoshapkina ZN, Mironova GE, Semenova EI, Olesova LD. Biochemical spectrum of blood serum as indicator of Yakutia residents adaptedness to northern conditions. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2015;22(11):19–24. (In Russ).
18. Jacobs RA, Meinild AK, Nordsborg NB, Lundby C. Lactate oxidation in human skeletal muscle mitochondria. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2013;304(7):E686–E694. doi: 10.1152/ajpendo.00476.2012
19. Schurr A. Chapter 2. Lactate, not pyruvate, is the end product of glucose metabolism via glycolysis. In: Caliskan M., editor. *Carbohydrate*. IntechOpen, 2017. P. 21–35. doi: 10.5772/66699
20. Chen YD, Varasteh BB, Reaven GM. Plasma lactate concentration in obesity and type 2 diabetes. *Diabete Metab*. 1993;19(4): 348–354.
21. Thorburn AW, Gumbiner B, Bulacan F, et al. Intracellular glucose oxidation and glycogen synthase activity are reduced in non-insulin-dependent (type II) diabetes independent of impaired glucose uptake. *J Clin Invest*. 1990;85(2):522–529. doi: 10.1172/JCI114468
22. Kochan TI. Regularities of exchange of carbohydrate metabolism in human depending on natural factors of the North. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2006;10:3–7. (In Russ).

23. Kolesnikova LI, Vlasov BYa, Kolesnikov SI, et al. The values of lactate, pyruvate and their ratio in patients with diabetes mellitus type I. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2016;61(7):405–407. (In Russ). doi: 10.18821/0869-2084-2016-7-405-407
24. Poteryaeva ON, Osipova LP, Russkikh GS, et al. Analysis of serum insulin, cortisol, and glucose levels in the settlement inhabitants of the Yamalo-Nenets autonomous okrug. *Fiziologiya cheloveka*. 2017;43(6):103–108. (In Russ). doi: 10.7868/S013116461706008X
25. Korchina TYa, Sukhareva AS, Korchin VI, Lapenko VV. Serum concentrations of vitamin D in women living in the Tyumen North. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2019;26(5):31–36. (In Russ). doi: 10.33396/1728-0869-2019-5-31-36
26. Higuchi I, Kimura Y, Kobayashi M, et al. Relationships between plasma lactate, plasma alanine, genetic variations in lactate transporters and type 2 diabetes in the Japanese population. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2020;35(1):131–138. doi: 10.1016/j.dmpk.2019.10.001
27. Khasnulin VI, Khasnulin PV. Modern concepts of the mechanisms forming northern stress in humans in high latitudes. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2012;(19)1:3–11. (In Russ).
28. Bichkaeva FA, Volkova NI, Bichkaev AA, et al. Correlations of the parameters of carbohydrate metabolism and saturated fatty acids in the blood serum of elderly people. *Adv Gerontol*. 2018;8(4):347–354. doi: 10.1134/S2079057018040033
29. Bichkaeva FA, Tipisova EV, Volkova NI. The ratio of insulin, sex hormones, sex hormone-binding β -globulin, parameters of lipid metabolism and glucose in the male population of the Arctic. *Problemy reproduktivnoy biologii*. 2016;22(2):99–110. (In Russ). doi: 10.17116/repro201622299-110

ОБ АВТОРАХ

***Бичкаева Фатима Артемовна**, д.б.н.;

адрес: 163000, Архангельск, набережная Северной Двины, 23;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0727-3071>;
eLibrary SPIN: 3562-3921;
e-mail: fatima@fciactic.ru

Власова Ольга Сергеевна, к.б.н.;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6956-6905>;
eLibrary SPIN: 3457-9822;
e-mail: olgawlassova@mail.ru

Шенгоф Борис Александрович,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3776-1474>;
eLibrary SPIN: 2259-0799;
e-mail: b-shengof@yandex.ru

Бичкаев Артем Альбертович,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6307-9399>;
eLibrary SPIN: 7674-2520;
e-mail: baa29my15@yandex.ru

Нестерова Екатерина Васильевна,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8467-2514>;
eLibrary SPIN: 7445-8730;
e-mail: ekaterina29reg@mail.ru

Волкова Наталья Ивановна, к.б.н.;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1958-028X>;
eLibrary SPIN: 7571-6607;
e-mail: natalja200958@mail.ru

AUTHORS INFO

***Fatima A. Bichkaeva**, Dr. Sci. (Biol.);

address: 23 Naberezhnaya Severnoy Dviny, 163000, Arkhangelsk, Russia; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0727-3071>;
eLibrary SPIN: SPIN 3562-3921;
e-mail: fatima@fciactic.ru

Olga S. Vlasova, Cand. Sci. (Biol.);

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6956-6905>;
eLibrary SPIN: 3457-9822;
e-mail: olgawlassova@mail.ru

Boris A. Shengof,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3776-1474>;
eLibrary SPIN: 2259-0799;
e-mail: b-shengof@yandex.ru

Artem A. Bichkaev,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6307-9399>;
eLibrary SPIN: 7674-2520;
e-mail: baa29my15@yandex.ru

Ekaterina V. Nesterova,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8467-2514>;
eLibrary SPIN: 7445-8730;
e-mail: ekaterina29reg@mail.ru

Natal'ya I. Volkova, Cand. Sci. (Biol.);

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1958-028X>;
eLibrary SPIN: 7571-6607;
e-mail: natalja200958@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco77320>

Оценка начальных проявлений токсического процесса в условиях хронического действия малых субтоксичных доз диоксинов, загрязняющих среду

А.Р. Лавренов^{1,2}, К.Г. Орджоникидзе^{1,3}, В.С. Румаков^{1,2}, А.И. Ким^{2,4}, Н.В. Умнова¹¹Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, Москва, Российская Федерация²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация³Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Российская Федерация⁴Университет МГУ–ППИ в Шэньчжэне, Шэньчжэнь, Китай

АННОТАЦИЯ

Цель. Изучить состояние генома по показателям активности ретротранспозонов; по уровню транскрипции гена, кодирующего ДНК-метилтрансферазу 1 (*DNMT1*); повреждаемости ДНК у животных из природной популяции рыжей полёвки, обитающей в загрязнённых малыми концентрациями диоксинов окрестностях законсервированной свалки (полигона отходов производства и потребления «Саларьево», г. Москва).

Материал и методы. Активность ретротранспозонов ERV-L, B1 и L1 и уровень транскрипции гена *DNMT1* оценивали методом ПЦР в реальном времени. Стабильность ДНК клеток печени и костного мозга характеризовали методом Comet Assay. Полученные характеристики состояния (устойчивости, реактивности и повреждаемости) генома в ответ на стрессовые факторы среды обитания сравнивали в группах животных из изучаемой и условно-контрольной выборок.

Результаты. В условиях длительного хронического воздействия малых доз диоксинов у полёвок из природной популяции обнаружены эффекты снижения активности ретротранспозонов подклассов B1 и L1 и увеличения уровня экспрессии гена *DNMT1*. Повышенный уровень повреждений ДНК (в среднем до 56% ДНК в хвосте кометы) был выявлен в гепатоцитах при дополнительном к хроническому действию малых субтоксичных доз диоксинов действию зимних факторов среды обитания.

Заключение. Подавление активности ретротранспозонов и повышение экспрессии её эпигенетического регулятора (*DNMT1*) можно рассматривать как адаптивную стратегию к длительному хроническому воздействию малых доз диоксинов, загрязняющих среду. Изменение реактивности и дестабилизация генома свидетельствуют о запуске начальных механизмов формирования токсического процесса. Созданная и апробированная методическая база для его изучения открывает перспективы установления порогового уровня и, как следствие, обоснования показателей для скрининговой оценки локального (территориального) риска здоровью населения путем биомониторинга.

Ключевые слова: диоксины; ДНК-метилтрансфераза; ретротранспозоны; Comet Assay; рыжая полёвка; свалка.

Как цитировать:

Лавренов А.Р., Орджоникидзе К.Г., Румаков В.С., Ким А.И., Умнова Н.В. Оценка начальных проявлений токсического процесса в условиях хронического действия малых субтоксичных доз диоксинов, загрязняющих среду // Экология человека. 2022. Т. 29, № 3. С. 199–208.

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco77320>

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco77320>

Evaluation of the initial manifestations of the toxic process in conditions of chronic action of low subtoxic doses of dioxins polluting the environment

Anton R. Lavrenov^{1,2}, Kristina G. Ordzhonikidze^{1,3}, Vladimir S. Roumak^{1,2}, Alexander I. Kim^{2,4}, Natalia V. Umnova¹

¹A.N. Severtsov Institute of ecology and evolution of the Russian academy of sciences, Moscow, Russian Federation

²Lomonosov Moscow state university, Moscow, Russian Federation

³Vavilov Institute of general genetics of the Russian academy of sciences, Moscow, Russian Federation

⁴Shenzhen MSU-BIT university, Shenzhen, China

ABSTRACT

AIM: To study the state of the genome by indicators of retrotransposon activity — the gene encoding DNA methyltransferase 1 (*DNMT1*); DNA damage in animals from the natural population of the bank vole (*Clethrionomys glareolus*) living in the vicinity of a preserved landfill contaminated with low concentrations of dioxins (landfill of production and consumption waste — "Salariyevo", Moscow).

MATERIAL AND METHODS: The activity of ERV-L, B1, and L1 retrotransposons and the transcription level of the *DNMT1* gene were evaluated by real-time PCR. The stability of DNA in liver and bone marrow cells was characterized by the comet assay method. Afterward, the obtained characteristics of the state (stability, reactivity, and damage) of the genome in response to environmental stress factors were compared in groups of animals from the study and conditionally control samples.

RESULTS: The effects of a decrease in the activity of retrotransposons of classes B1 and L1, and an increase in *DNMT1* gene expression level were revealed in voles from the natural population living under the long-term chronic exposure to low doses of dioxins decrease in the activity of retrotransposons of classes B1 and L1, and an increase in the expression level of the *DNMT1* gene were revealed. An increased level of DNA damage (on average up to 56% of the DNA in the tail of the comet) was detected in hepatocytes, with the addition of winter environmental factors to the chronic effect of small subtoxic doses of dioxins.

CONCLUSION: Suppression of retrotransposon activity and increased expression of its epigenetic regulator (*DNMT1*) are regarded as adaptive responses to long-term chronic exposure to low doses of dioxins polluting the environment. The alteration in the reactivity and destabilization of the genome indicates the launch of the initial mechanisms of the toxic process formation. The created and tested methodological base for its study opens up prospects for establishing a threshold level, and as a result, substantiating indicators for screening assessment of local (territorial) risk to public health by biomonitoring.

Keywords: dioxins; DNA methyltransferase; retrotransposons; comet assay; bank vole; landfill.

To cite this article:

Lavrenov AR, Ordzhonikidze KG, Roumak VS, Kim AI, Umnova NV. Evaluation of the initial manifestations of the toxic process in conditions of chronic action of low subtoxic doses of dioxins polluting the environment. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2022;29(3):199–208.

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco77320>

Received: 04.08.2021

Accepted: 14.02.2022

Published: 15.06.2022

ВВЕДЕНИЕ

В больших и малых городах России, где проживает большая часть населения, источники диоксинов встречаются практически повсеместно [1]. Высокий уровень вероятности негативного влияния производимых ими выбросов и сбросов на здоровье и развитие организмов определяет актуальность разработки мероприятий для контроля и охраны экологической безопасности [2].

Опосредованное средой длительное хроническое воздействие на население малых субтоксичных доз (концентраций) диоксинов, которые характеризуются выраженными свержкумулятивными эффектами, может проявляться отдалёнными медико-биологическими последствиями. Начальные и клинические формы проявления этих последствий схожи с малоизученными полигенными заболеваниями [2, 3]. В связи с этим отметим, что биологические механизмы формирования и развития отдалённых последствий в значительной степени определяются каскадными изменениями сигнальных путей, запускаемых системой рецептора ароматических углеводородов (AhR), множеством белков-коактиваторов [4] при участии механизмов эпигенетической регуляции (включая метилирования и деметилирования) промоторов множества генов [5]. Поэтому расширение представлений о состоянии генома имеет большую практическую значимость для разработки биомониторинга запускаемых начальными биологическими и токсическими эффектами реакций биосистем организма.

Для охраны окружающей среды в России и здоровья её населения установлены нормы допустимого поступления диоксинов в организм человека и гигиенические нормативы содержания смесей этих веществ в средах [6]. Между тем обоснованная оценка с помощью данных норм и нормативов малых субтоксичных доз (концентраций) диоксинов, загрязняющих среду, затруднена в связи с пространственной мозаичностью их содержания в окружающей среде и тканях человека на подлежащих контролю территориях, индивидуальными различиями в чувствительности и/или резистентности, а также активным влиянием на проявления токсических свойств многих внешних и временных факторов экспозиции [3, 7]. Большую часть этих ограничений позволяет учитывать биомониторинг [8].

Наилучшие условия для биомониторинга путём выявления начальных проявлений токсических эффектов диоксинов предоставляет молекулярная токсикология, так как это направление призвано изучать закономерности взаимодействия токсических химических веществ с живыми организмами на начальном уровне формирования токсического процесса (в первую очередь следует говорить о молекулярном и клеточном уровнях) [6]. Методические возможности молекулярной токсикологии могут способствовать созданию условий для своевременной оценки риска здоровью населения при воздействии выбросов

диоксинов, загрязняющих среду. Всё это в полной мере можно отнести к исследованиям ретротранспозонов во взаимосвязи с регуляторами их активности и проявлениями в виде повреждений ДНК.

Ретротранспозоны, или мобильные генетические элементы, — неперенный компонент ядерной ДНК живого организма [9]. Их ключевыми представителями стали три класса: с длинными концевыми повторами (ДКП-ретротранспозоны); короткие диспергированные повторы (SINE — short interspersed repeated sequences); длинные диспергированные повторы (LINE — long interspersed repeated sequences) [10, 11]. Наиболее известными подклассами этих трёх классов являются ERV-L, B1 и L1 соответственно. В благоприятных для жизни условиях ретротранспозоны малоактивны, так как подавляются множеством эпигенетических механизмов, например работой метилтрансфераз [9]. При воздействии на организм многих стрессовых факторов активность ретротранспозонов возрастает, что проявляется ростом уровня их обратной транскрипции и активизацией процессов перемещения внутри генома по типу «копирование и вставка».

Взаимосвязи между активностью ретротранспозонов, утратой геномом присущей ему стабильности и патогенезом многих полигенных заболеваний уже отмечены и активно изучаются [9]. В отношении длительного хронического воздействия на организм малых субтоксичных доз диоксинов, загрязняющих среду, такие данные практически отсутствуют. Необходимость их получения определила цель настоящей работы.

Цель исследования. Изучить состояние генома по показателям активности ретротранспозонов; уровня транскрипции гена, кодирующего ДНК-метилтрансферазу 1 (*DNMT1*); повреждаемости ДНК у животных из природной популяции рыжей полёвки, обитающей в загрязнённых малыми концентрациями диоксинов окрестностях законсервированной свалки (полигона отходов производства и потребления «Саларьево», г. Москва).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектами исследования стали загрязнённые диоксинами ткани животных из природной популяции рыжей полёвки (*Clethrionomys glareolus*), обитающей на сельтебных территориях в окрестностях стационарного источника выбросов и сбросов этих веществ — законсервированной свалки (полигона твёрдых отходов производства и потребления «Саларьево», г. Москва, 55.417925, 37.289854). Четырёхлетний мониторинг (в 2016–2019 гг.) содержания смесей диоксинов в тканях исследуемых животных показал достаточно высокий и стабильный во времени уровень их присутствия. Средние значения общей токсичности, т.е. суммарные величины WHO-TEQ₀₅ в пересчёте на 2,3,7,8-ТХДД (2,3,7,8-тетрахлородибензодиоксин), составляли 3,7±4,5 пг/г липидов. Статистически значимых различий между самками и самцами не выявлено.

Отлов и обследование животных выполнены в 2018–2019 гг. Отметим, что этот вид довольно часто используют в качестве модельного объекта в экотоксикологии [12]. Наши предыдущие исследования (отлов 2016–2017 гг.) [13] показали перспективы использования рыжих полёвок при начальной оценке риска для человека малых субтоксичных доз диоксинов, загрязняющих среду. Условно-контрольная выборка рыжей полёвки представлена потомками популяции, обитавшей до 2011 года на территории Центрально-Лесного заповедника в Тверской области. В настоящее время эта популяция поддерживается сотрудниками научно-экспериментальной базы Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук «Черноголовка» путём непрерывного размножения в условиях вивария. С помощью контрольного измерения содержания диоксинов в тканях животных, представляющих эту выборку, показан низкий уровень загрязнения — $0,26 \pm 0,04$ пг/г липидов.

Общий объём обследованных выборок составил 53 особи (табл. 1).

Эвтаназию экспонированных и неэкспонированных животных проводили путём шейной дислокации после трёхдневного содержания в лаборатории, что исключало стрессовые реакции в ответ на изъятие из привычных условий обитания. Метод эвтаназии соответствовал требованиям ст. 6 и Приложения IV Директивы Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС от 22.09.2010 г. о защите животных, используемых для научных целей. Пробы печени и костного мозга отбирали сразу после эвтаназии. Ретротранспозоны анализировали в печени, кометы — в печени и костном мозге.

Все последующие генетические анализы тканей выполняли согласно стандартным протоколам по методикам, используемым при биомониторинге и описанным ниже.

Протокол анализа ретротранспозонов предусматривал идентификацию подклассов ERV-L, B1 и L1 в геномной ДНК методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) и изучение активности ретротранспозонов по комплементарной ДНК (кДНК), полученной с их транскриптов. Одновременно определяли уровень транскрипции гена метилтрансферазы *DNMT1*, поскольку метилирование

является одним из основных способов подавления транскрипции ретротранспозонов геномом [9].

Выделение тотальной РНК и геномной ДНК проводили согласно протоколу набора ExtractRNA («Евроген», Россия). Пробы РНК обрабатывались ДНКазой I (Thermo Fisher Scientific, США) в течение одного часа по протоколу фирмы-производителя. кДНК синтезировали с использованием случайного праймера с помощью набора MMLV RT kit согласно протоколу производителя («Евроген», Россия).

Выбор праймеров для ПЦР включал анализ выравнивания известных консервативных последовательностей ретротранспозонов ERV-L (приложение 1), B1 (<http://sines.eimb.ru/>), L1 и последовательностей *DNMT1* (приложение 2); <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore> [10, 11, 14]. β -актин использовали в качестве референсного гена для оценки уровня транскрипции. С целью нормирования числа ДНК-копий ретротранспозонов применяли однокопийный ген *glucagon (GCG)*. ПЦР проводили согласно протоколу набора qPCRmix-HS SYBR («Евроген», Россия). Схема цикла ПЦР: плавление — 30 с при 95 °С, отжиг праймеров — от 30 с до 1 мин при 51–55 °С в зависимости от температуры плавления праймеров и синтез в течение 1 мин при 72 °С.

В качестве матрицы использовали хромосомную ДНК и кДНК. Результаты ПЦР обрабатывали в программе Bio-Rad CFX Manager v. 1.6.541.1028 (Bio-Rad, США).

Последовательности подобранных праймеров:

- Ervpol nF 5'-AGAATGACAGTTGAYTATYGA-3'
- Ervpol nR 5'-ATCAATATAGTGNACCARTGTG-3'
- Ervpolmd-R 5'-AATTGCTTCTGGTGGTCTTAT-3'
- Ervpolmd-F5'-TCCATAAGGACCACCAGAAG-3'
- b1F 5'-ACGCCTTAAATCCCAGCACT-3'
- b1R 5'-TTTCGAGACAGGGTTTCTCTG-3'
- l1F 5'-CTCAGAAGATGGAAGATCTCCCA-3'
- l1R5'-GATGGGGATTGCATTGAATCTGT-3'
- dnmrtF5'-AGTGACGAGGAAGCTGTGGT-3'
- dnmrtR5'-AAGGAAGTAGAAGCGGTCAGG-3'
- β -actin F 5'-GCTCTTTCCAGCCTTCTT-3'
- β -actin R 5'-GAGCCAGAGCAGTGATCTCC-3'
- GLCGN-F 5'-AACATTGCCAAACGTATGATG-3'
- GLCGN-R 5'-GCCTTCTCGGCCTTCA-3'

Таблица 1. Общая характеристика исследованного биоматериала

Table 1. General characteristics of the examined biomaterial

Обозначение выборок / Designation of samples	Условное обозначение / Conditional designation	Исследуемые показатели / Studied indicators	Количество животных / Number of animals	
			самцы / males	самки / females
Экспонированные животные	Sv-BV	ДНК/РНК-анализ	12	6
		ДНК-кометы	5	3
Условно-контрольные	Ch-BV	ДНК/РНК-анализ	10	8
		ДНК-кометы	6	3

Анализ повреждений ДНК методом Comet Assay (гель-электрофорез единичных клеток) проводили в соответствии с рекомендациями OECD Guidelines for the testing of chemicals (2016) [15] и рекомендациями по анализу щелочных комет *in vivo* [16]. Слайды анализировали под микроскопом AxioPlan 2 Imaging (Carl Zeiss, Германия), оснащённым камерой CV-M4+CL (JAI, Япония) и программным обеспечением Comet Imager 2.0 (MetaSystems Hard & Software GmbH, Германия). В качестве показателя повреждённости ДНК в соответствии с рекомендациями OECD 489 использовали процентное содержание ДНК в хвосте кометы (ДНК, %), отражающее относительное количество фрагментов ДНК, мигрирующих к аноду при электрофорезе. От каждого животного анализировали не менее 100 клеток печени и костного мозга на процент ДНК в хвосте кометы и подсчитывали медиану по группе. Согласно рекомендациям OECD 489, медиану процента ДНК в хвосте комет определяли для каждого животного (не менее 100 клеток на животное, полученных с двух слайдов), после чего подсчитывали медиану по группе.

Статистическую обработку данных, полученных методом Comet Assay, а также методом ПЦР в реальном времени, проводили с применением непараметрического теста Манна–Уитни в программе SPSS Statistics, v. 25 и JASP, v. 0.13 соответственно.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В выборке экспонированных (Sv-BV) и условно контрольных полёвок (Ch-BV) геномная ДНК содержала все изучаемые нами ретротранспозоны — ERV-L, B1 и L1. Количественных различий между выборками по показателю «количество копий» ретротранспозонов на геном не выявлено.

Транскрипция подкласса ERV-L в выборках экспонированных и условно-контрольных полёвок отсутствовала. Уровень транскрипции подклассов B1 и L1 у экспонированных особей был статистически значимо ниже такового у неэкспонированных ($p=0,004$ и $p=0,002$ соответственно) (рис. 1, *a*, *b*). Этому снижению сопутствовало статистически значимое повышение транскрипции гена *DNMT1* ($p=0,002$), участвующего в механизмах метилирования ДНК (рис. 1, *c*). Значимого влияния гендерных различий на уровень транскрипции подклассов B1 и L1 в выборках экспонированных и условно-контрольных животных не установлено. Корреляции этих изменений с показателями массы тела, роста и другими морфометрическими параметрами животных не выявлено.

Методом Comet Assay определили, что у экспонированных животных уровень встречаемости гепатоцитов с повреждениями ДНК был ниже, чем у контрольной выборки, т.е. $2,06\pm 0,28\%$ — для Sv-BV и $5,66\pm 0,89\%$ — для Ch-BV ($p=0,05$). Для клеток костного мозга статистически значимых различий не выявлено ($1,29\pm 0,35\%$ — в выборке Sv-BV и $2,55\pm 0,38\%$ — в выборке Ch-BV).

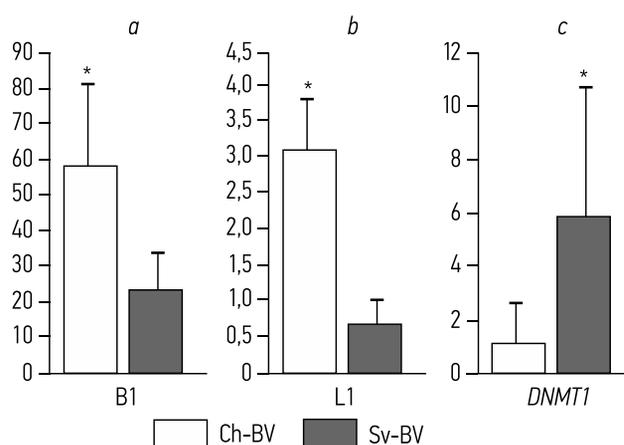


Рис. 1. Уровни транскрипции ретротранспозонов B1 (SINE) (*a*) и L1 (LINE-1) (*b*), а также гена *DNMT1* (*c*), рассчитанной методом Δ Ct с нормализацией на бета-актин. На гистограммах отображены средние значения показателей. Планки погрешностей отражают максимальные и минимальные значения. Ch-BV — условно-контрольная линия из вивария «Черноголовка», Sv-BV — линия, отобранная с экспонированной территории. * — статистически значимые различия при $p < 0,05$.

Fig. 1. Relative levels of retrotransposons transcription — B1 SINE (*a*) and LINE-1 (*b*), and *DNMT1* gene transcription (*c*) calculated by the Δ Ct method with normalization to beta-actin. The average values are shown on the histograms. Error bars represent maximum and minimum values. Ch-BV — conditionally control strain from the “Chernogolovka” vivarium, Sv-BV — voles trapped on the exposed territory near “Salariyevo” landfill. * — significant differences at $p < 0.05$.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования свидетельствуют о том, что обусловленное средой длительное хроническое воздействие на организм рыжей полёвки малых субтоксичных доз (концентраций) выбросов диоксинов, производимых законсервированной свалкой отходов производства и потребления, проявилось уменьшением активности ретротранспозонов L1 и B1, повышенным уровнем экспрессии гена *DNMT1*, отсутствием в клетках костного мозга повреждений ДНК и сниженным уровнем встречаемости гепатоцитов с такими повреждениями.

При оценке этого результата важно учитывать, что за период эксплуатации полигона (больше 50 лет) в изучаемой популяции сменилось более 100 поколений, накопивших не только диоксины и другие загрязнители, но и делеционные и/или инсерционные мутации, которые вместе с диоксинами длительное время передавались по нисходящим поколениям, превращаясь в дополнительные факторы риска. При таком множестве факторов экспозиции добиться условий для чёткой идентификации эффектов токсического действия диоксинов крайне сложно, а подчас практически невозможно. В связи с этим стали применять интегральные показатели, фиксирующие изменения, которые часто возникают у экспонированных животных в условиях дополнительных экстремальных нагрузок и отражают начальные проявления

механизмов адаптации и дезадаптации биологических систем [17].

Экстремальная роль зимнего сезона года для полёвок как цикломорфных млекопитающих твёрдо доказана [18]. Мы дополнительно проанализировали вероятные изменения гепатоцитов и клеток костного мозга по показателям встречаемости повреждений ДНК в выборке переживших зиму половозрелых полёвок. Животных из выборки Sv-BV ($n=9$) отловили строго на тех же участках ранней весной сразу после схода снежного покрова в последующий за годом отлова год и обозначили как выборку Sv-BV(Spr). У этих полёвок уровень встречаемости гепатоцитов с повреждениями ДНК оказался очень высоким и составил $55,29 \pm 9,53\%$ против $5,66 \pm 0,80\%$ в условно-контрольной выборке (Ch-BV) и против $2,06 \pm 0,28\%$ — у экспонированных животных (Sv-BV) (рис. 2).

В аспекте перспектив характеристики токсического процесса в виде клинически значимых форм критериев

для оценки этого результата не создано. Между тем эффект высокого уровня нестабильности ДНК в гепатоцитах можно оценить как проявление изменённой реактивности клеток. Косвенное отношение к оценке и трактовке этого результата имеют установленные нами ранее взаимосвязи между показателями сниженной у человека реактивности системы микросомального окисления в печени и лимфоцитах, дестабилизации лимфоцитарной ДНК и проявлениями так называемой диоксиновой патологии. Её характеризуют многие излечимые и практически неизлечимые формы потерь здоровья и нарушения развития, возникающие у жителей загрязнённых диоксинами территорий Вьетнама, которые были обследованы нами в связи с применением армией США диоксиносодержащей рецептуры «Оранжевый агент» [2, 3, 17].

Встречаемость в костном мозге полёвок клеток с повреждениями ДНК во всех рассмотренных нами выборках оказалась хорошо сопоставимой и не превышала 3%.

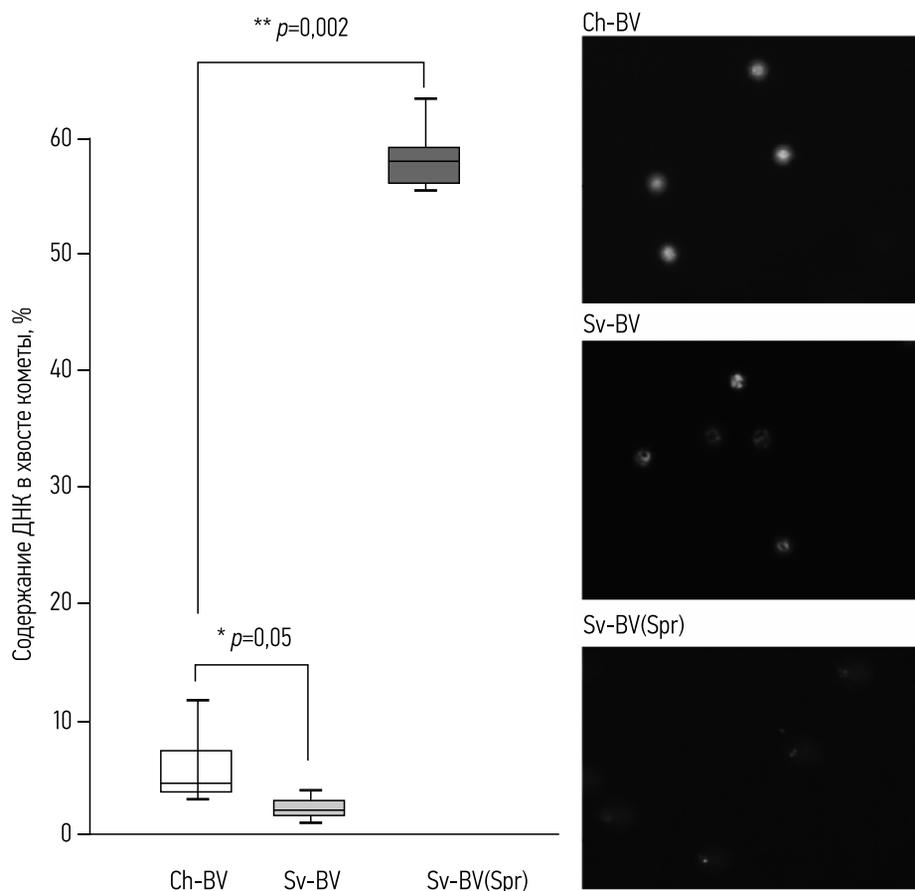


Рис. 2. Процентное содержание ДНК в хвосте кометы в клетках печени рыжей полёвки. Данные представлены в виде диаграммы линейных отрезков, отражающих величины медиан для исследуемых выборок животных с 25% и 75% (цветные прямоугольники) минимальными и максимальными значениями, выбросы (звезды). Sv-BV — экспонированные животные, обследованные в осенний период; Sv-BV(Spr) — экспонированные животные, обследованные в весенний период; Ch-BV — контрольная группа. * $p=0,05$ — статистически значимые отличия от контроля; ** $p=0,002$ — между экспериментальными группами (непараметрический U-критерий Манна–Уитни).

Fig. 2. DNA damage (% DNA in the tail) in liver cells in the bank voles (*Clethrionomys glareolus*) groups. The data is represented as a boxplot for medians for investigated groups of animals with 25% and 75% (“boxes”), minimum and maximum values excluding outliers (stars). Sv-BV — exposed animals, caught in autumn; Sv-BV(Spr) — exposed animals, caught in spring; Ch-BV — control group. * $p=0,05$ — significant differences from the control; ** $p=0,002$ — or between experimental groups (non-parametrical Mann–Whitney U-test).

Среди выборки Sv-BV их процентная частота составила $2,55 \pm 0,38$; среди выборки Sv-BV(Spr) — $1,66 \pm 0,50$ и Ch-BV — $1,29 \pm 0,35\%$. Различия в реакциях со стороны гепатоцитов и клеток костного мозга мы связываем с особенностями условий экспозиции. Известно, что ткани печени в отличие от костного мозга более активно накапливают диоксины [19]. При этом продолжительность жизни дифференцированных гепатоцитов исключительно велика, тогда как костный мозг характеризуется высокой способностью к регенерации [20] и, как следствие, сравнительно непродолжительным периодом взаимодействия зрелых клеток с накопленными диоксинами. Более того, невысокий уровень повреждённых гепатоцитов у животных осеннего отлова может быть связан с повышенным уровнем апоптоза повреждённых клеток, что было нами показано ранее для молодого поколения вьетнамских крестьян [3].

На основании собранных данных появилась возможность оценки использованного в работе протокола исследований для поиска показателей биомониторинга со стороны реакций внутриклеточных структур.

Зарегистрированные нами эффекты повышения уровня транскрипции *DNMT1* и снижения активности ретротранспозонов в полной мере отражают известные представления о регуляции их активности путём метилирования ДНК [9]. В ряде исследований на лабораторных животных и культурах тканей [5, 21] была продемонстрирована индукция экспрессии метилтрансфераз различными дозами ТХДД, что приводило к изменениям уровня метилирования ДНК. Поэтому наблюдаемую нами пониженную активность ретротранспозонов B1 и L1 в выборке экспонированных животных (Sv-BV) мы рассматриваем в аспекте общих механизмов формирования и развития защитных реакций, направленных на активное подавление транспозиции ретротранспозонов и предотвращение дестабилизации генома. Отсутствие подобного эффекта со стороны подкласса ERV-L у экспонированных и неэкспонированных особей мы связываем с тем, что активность этих ретротранспозонов у полёвок очень низкая и, как следствие, выявить её изменения с помощью использованных в работе методов оказалось практически невозможным.

Некоторые лабораторные эксперименты [14, 22] показывают, что диоксины могут стимулировать активность ретротранспозонов и гипометилирование ДНК. Однако лабораторные исследования не учитывают долговременный эффект сверхмалых доз стойких органических загрязнителей на организм, как и адаптивные механизмы, которые передаются из поколения в поколение среди животных, подвергающихся хроническому воздействию химических стрессовых факторов. О негативных последствиях чрезмерной активности ретротранспозонов известно давно [9], но стоит отметить, что и чрезмерное подавление их транскрипции, и гиперметилирование ДНК могут негативно сказываться на жизнеспособности

организма. Так, повышенная активность *DNMT1* и метилирование сайтов транспозонов могут распространяться на соседние гены [14]. Гиперметилирование некоторых генов-супрессоров опухолей приводит к соматическим патологиям [23]. Известно также, что нормальная активность ретротранспозонов важна на ранних стадиях развития млекопитающих [9].

Мы предполагаем, что предотвращение транспозиции ретротранспозонов путём гиперметилирования ДНК — наиболее оптимальная стратегия генома для развития адаптации к экотоксикантам и другим стрессовым факторам окружающей среды. Для более полного понимания происходящих изменений при стрессовом воздействии на организм (что имеет большое практическое значение для биомониторинга) протоколы дальнейших исследований должны быть расширены методами, позволяющими изучать активность ретротранспозонов и связанных с ними эпигенетических процессов (например, изменения уровня экспрессии метилтрансфераз *DNMT3a* и *DNMT3b*, а также статуса метилирования геномной ДНК).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результат анализа данных, отражающих состояние генома печени животных из природной популяции рыжей полёвки, обитающей на загрязнённых малыми субтоксичными концентрациями диоксинов территориях, стал основанием для заключения о запуске начальных механизмов формирования токсического процесса. Полученные нами характеристики таких механизмов не только расширили представления о токсичности этих веществ (что имеет большое практическое значение для установления порогового уровня), но и позволили рекомендовать уже сейчас расширять с их помощью перечень мероприятий скрининговой оценки риска для здоровья населения методами биомониторинга. Особенность популяций рыжей полёвки — длительное проживание на строго определённых, небольших по площади территориях и, соответственно, активное поглощение местных пищевых продуктов, загрязнённых выбросами диоксинов. Следовательно, концентрации диоксинов в тканях этих животных (внутренняя доза) во взаимосвязи с проявлениями начальных токсических эффектов наилучшим образом отражают общие закономерности хемобиокинетики и токсикодинамики диоксинов в условиях максимально жёсткой экспозиции, приуроченной к строго определённой территории. Человек в силу своего образа жизни поглощает эти вещества в существенно меньших количествах. В связи с этим оценка токсичности накопленных полёвками доз диоксинов будет способствовать решению задач по предупреждению риска за счёт формирования научно обоснованного представления о возможной биодоступности для человека этих веществ в ближайшей перспективе.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFORMATION

Исследование выполнено в рамках Программы развития Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова «Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды».

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Наибольший вклад распределён следующим образом: А.Р. Лавренов — подготовка исследования, получение и анализ данных, подготовка первого варианта статьи; К.Г. Ордзжоникидзе — дизайн исследования, получение и анализ данных; В.С. Румак — разработка концепции эксперимента, подготовка первого варианта статьи; А.И. Ким — разработка первого варианта статьи; Н.В. Умнова — разработка дизайна и концепции эксперимента, редактирование вариантов статьи, утверждение окончательного варианта рукописи.

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Благодарность. Авторы выражают благодарность научному сотруднику Лаборатории поведения и поведенческой экологии Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук (Россия), к.б.н. Осиповой О.В. за предоставление условно-контрольной линии из коллекции животных ЦКП «Живая коллекция диких видов млекопитающих»

научно-экспериментальной базы «Черноголовка» Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук.

This research was performed according to the Development program of the Interdisciplinary scientific and educational school of M.V. Lomonosov Moscow state university «Future planet and global environmental change».

Author contribution. All authors confirm that their authorship meets the international ICMJE criteria (all authors have made a significant contribution to the development of the concept, research and preparation of the article, read and approved the final version before publication). The greatest contribution is distributed as follows: Anton R. Lavrenov — research preparation, data acquisition and analysis, preparation of the first version of the article; Kristina G. Ordzhonikidze — research design, data acquisition and analysis; Vladimir S. Roumak — development of the concept of the experiment, preparation of the first version of the article; Alexander I. Kim — development of the first version of the article; Natalya V. Umnova — development of the design and concept of the experiment, editing of the versions of the article; approval of the final version of the manuscript.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Competing interests. The authors declare that there are no obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Acknowledgment. The authors express their gratitude to the researcher of the Laboratory of behavior and behavioral ecology of the A.N. Severtsov Institute of ecology and evolution of the Russian academy of science (Russia), Ph.D., Osipova OV for providing a conditional control line from the collection of animals from the Joint usage center's «Collection of live mammals».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Розанов В.Н., Трегер Ю.А. Оценка выбросов диоксинов основных источников в РФ // Экология и промышленность в России. 2011. № 2. С. 32–35.
2. Софронов Г.А., Бочков Н.П., Умнова Н.В., и др. Эколого-генетические проявления диоксиновой патологии // Медицинский академический журнал. 2006. Т. 6, № 1. С. 163–174.
3. Sycheva L.P., Umnova N.V., Kovalenko M.A., et al. Dioxins and cytogenetic status of villagers after 40 years of Agent Orange application in Vietnam // Chemosphere. 2016. № 144. P. 1415–1420. doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.10.009
4. Prokopec S.D., Houlahan K.E., Sun R.X., et al. Compendium of TCDD-mediated transcriptomic response datasets in mammalian model systems // BMC Genomics. 2017. Vol. 18, N 1. P. 78. doi: 10.1186/s12864-016-3446-z
5. Patrizi B., Cumis M.S. TCDD toxicity mediated by epigenetic mechanisms // Int J Mol Sci. 2018. Vol. 19, N 12. P. 4101. doi: 10.3390/ijms19124101
6. Софронов Г.А., Рембовский В.Р., Радиков А.С., Могиленкова Л.А. Современные взгляды на механизмы токсического действия диоксинов и их санитарно-гигиеническое нормирование // Медицинский академический журнал. 2019. Т. 19, № 1. С. 17–28.
7. Агапкина Г.И., Ефименко Е.С., Бродский Е.С., и др. Полихлорированные дибензо-п-диоксины и дибензофураны в почвах г. Москвы // Вестник московского университета. Серия 17, почвоведение. 2010. Т. 65. № 3. С. 16–20. doi: 10.3103/s0147687410030038
8. Weber R., Herold C., Hollert H., et al. Reviewing the relevance of dioxin and PCB sources for food from animal origin and the need for their inventory, control and management // Environ Sci Eur. 2018. Vol. 30. N 1. P. 42. doi: 10.1186/s12302-018-0166-9
9. Goodier J.L. Restricting retrotransposons: a review // Mob DNA. 2016. Vol. 7. P. 16. doi: 10.1186/s13100-016-0070-z
10. Sookdeo A., Hepp C.M., McClure M.A., Boissinot S. Revisiting the evolution of mouse LINE-1 in the genomic era // Mob DNA. 2013. Vol. 4, N 1. P. 3. doi: 10.1186/1759-8753-4-3
11. Veniaminova N.A., Vassetzky N.S., Kramerov D.A. B1 SINEs in different rodent families // Genomics. 2007. Vol. 89, N 6. P. 678–686. doi: 10.1016/j.ygeno.2007.02.007
12. Безель В.С., Мухачева С.В. Трофические уровни мелких млекопитающих: мультиэлементный состав и токсическая нагрузка // Поволжский экологический журнал. 2012. №1. С. 3–13.
13. Румак В.С., Умнова Н.В., Левенкова Е.С., и др. Диоксины в среде и организме животных вблизи полигона отходов производства и потребления: к методологии риска для здоровья населения // Экология человека. 2017. Т. 24. № 10. С. 9–15. doi: 10.33396/1728-0869-2017-10-9-15

14. Carnell A.N., Goodman J.I. The long (LINEs) and the short (SINEs) of it: altered methylation as a precursor to toxicity // *Toxicol Sci.* 2003. Vol. 75, N 2. P. 229–235. doi: 10.1093/toxsci/kfg138
15. OECDilibrary [Internet]. Test No. 489: in vivo mammalian alkaline comet assay, OECD guidelines for the testing of chemicals, section 4, Paris: OECD Publishing, 2016.
16. Gajski G., Žegura B., Ladeira C., et al. The comet assay in animal models: from bugs to whales (part 2 vertebrates) // *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2019. Vol. 781. P. 130–164. doi: 10.1016/j.mrrev.2019.04.002
17. Roumak V.S., Umnova N.V., Poznyakov S.P., An N.Q., Sofronov G.A. Disadaptive effects in humans after exposure to chemicals containing dioxin // *Organohalogen compounds.* 1994. Vol. 21. P. 379–381.
18. Ecke F., Berglund A.M.M., Rodushkin I., et al. Seasonal shift of diet in bank voles explains trophic fate of anthropogenic osmium? // *Sci Total Environ.* 2018. Vol. 624. P. 1634–1639. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.10.056
19. Kunisue T., Watanabe M.X., Iwata H., et al. PCDDs, PCDFs, and coplanar PCBs in wild terrestrial mammals from Japan: congener specific accumulation and hepatic sequestration // *Environ Pollut.* 2006. Vol. 140, N 3. P. 525–535. doi: 10.1016/j.envpol.2005.07.020
20. Bénit L., Lallemand J.B., Casella J.F., Philippe H., Heidmann T. ERV-L elements: a family of endogenous retrovirus-like elements active throughout the evolution of mammals // *J Virol.* 1999. Vol. 73, N 4. P. 3301–3308. doi: 10.1128/JVI.73.4.3301-3308.1999
21. Zhang W., Zhou S., Gao Y., et al. Alterations in DNA methyltransferases and methyl-CpG binding domain proteins during cleft palate formation as induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in mice // *Mol Med Rep.* 2018. Vol. 17, N 4. P. 5396–5401. doi: 10.3892/mmr.2018.8521
22. Miousse I.R., Chalbot M.C.G., Lumen A., et al. Response of transposable elements to environmental stressors // *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2015. Vol. 765. P. 19–39. doi: 10.1016/j.mrrev.2015.05.003
23. Ma H.S., Wang E.L., Xu W.F., et al. Overexpression of DNA (Cytosine-5)-methyltransferase 1 (DNMT1) and DNA (Cytosine-5)-methyltransferase 3A (DNMT3A) is associated with aggressive behavior and hypermethylation of tumor suppressor genes in human pituitary adenomas // *Med Sci Monit.* 2018. Vol. 24. P. 4841–4850. doi: 10.12659/MSM.910608

REFERENCES

1. Rozanov VN, Treger YuA. Assessment of dioxins emission from major sources in the Russian Federation. *Ecology and Industry of Russia.* 2011;2:32–35. (In Russ).
2. Sofronov GA, Bochkov NP, Umnova NV, et al. Ecologo-genetic manifestations of dioxin pathology. *Medical academic journal.* 2006;6(1):163–174. (In Russ).
3. Sycheva LP, Umnova NV, Kovalenko MA, et al. Dioxins and cytogenetic status of villagers after 40 years of Agent Orange application in Vietnam. *Chemosphere.* 2016;144:1415–1420. doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.10.009
4. Prokopec SD, Houlahan KE, Sun RX, et al. Compendium of TCDD-mediated transcriptomic response datasets in mammalian model systems. *BMC Genomics.* 2017;18(1):78. doi: 10.1186/s12864-016-3446-z
5. Patrizi B, Cumis MS. TCDD toxicity mediated by epigenetic mechanisms. *Int J Mol Sci.* 2018;19(12):4101. doi: 10.3390/ijms19124101
6. Sofronov GA, Rembovskij VR, Radilov AS, Mogilenkova LA. Modern views on the mechanism of the toxic action of dioxins and their hygienic rationing. *Medical Academic Journal.* 2019;19(1):17–28. (In Russ). doi: 10.17816/MAJ19117-28
7. Agapkina GI, Brodskij ES, Shelepchikov AA, et al. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in soils of Moscow-City. *Moscow university soil science bulletin.* 2010;65(3):114–118. doi: 10.3103/s0147687410030038
8. Weber R, Herold C, Hollert H, et al. Reviewing the relevance of dioxin and PCB sources for food from animal origin and the need for their inventory, control and management. *Environ Sci Eur.* 2018;30(1):42. doi: 10.1186/s12302-018-0166-9
9. Goodier JL. Restricting retrotransposons: a review. *Mob DNA.* 2016;7:16. doi: 10.1186/s13100-016-0070-z
10. Sookdeo A, Hepp CM, McClure MA, Boissinot S. Revisiting the evolution of mouse LINE-1 in the genomic era. *Mob DNA.* 2013;4(1):3. doi: 10.1186/1759-8753-4-3
11. Veniaminova NA, Vassetzky NS, Kramerov DA. B1 SINEs in different rodent families. *Genomics.* 2007;89(6):678–686. doi: 10.1016/j.ygeno.2007.02.007
12. Bezel` VS, Muxacheva SV. Trophic levels of small mammals: multi-element composition and toxic load. *Povolzhskiy Journal of Ecology (Saratov).* 2012;1:3–13. (In Russ). doi: 10.1134/s1062359013100014
13. Roumak VS, Umnova NV, Levenkova ES, et al. Dioxins in the environment and the body of animals near landfill: to the methodology of public health risk evaluation. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology).* 2017;24(10):9–15. (In Russ). doi: 10.33396/1728-0869-2017-10-9-15
14. Carnell AN, Goodman JI. The long (LINEs) and the short (SINEs) of it: altered methylation as a precursor to toxicity. *Toxicol Sci.* 2003;75(2):229–235. doi: 10.1093/toxsci/kfg138
15. OECDilibrary [Internet]. Test No. 489: in vivo mammalian alkaline comet assay, OECD guidelines for the testing of chemicals, section 4, Paris: OECD Publishing, 2016.
16. Gajski G, Žegura B, Ladeira C, et al. The comet assay in animal models: from bugs to whales — (part 2 vertebrates). *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2019;781:130–164. doi: 10.1016/j.mrrev.2019.04.002
17. Roumak VS, Umnova NV, Poznyakov SP, An NQ, Sofronov GA. Disadaptive effects in humans after exposure to chemicals containing dioxin. *Organohalogen compounds.* 1994;21:379–381.
18. Ecke F, Berglund AMM, Rodushkin I, et al. Seasonal shift of diet in bank voles explains trophic fate of anthropogenic osmium? *Sci Total Environ.* 2018;624:1634–1639. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.10.056

19. Kunisue T, Watanabe MX, Iwata H, et al. PCDDs, PCDFs, and coplanar PCBs in wild terrestrial mammals from Japan: congener specific accumulation and hepatic sequestration. *Environ Pollut*. 2006;140(3):525–535. doi: 10.1016/j.envpol.2005.07.020
20. Bénit L, Lallemand JB, Casella JF, Philippe H, Heidmann T. ERV-L elements: a family of endogenous retrovirus-like elements active throughout the evolution of mammals. *J Virol*. 1999;73(4):3301–3308. doi: 10.1128/JVI.73.4.3301-3308.1999
21. Zhang W, Zhou S, Gao Y, et al. Alterations in DNA methyltransferases and methyl-CpG binding domain proteins during cleft palate formation as induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in mice. *Mol Med Rep*. 2018;17(4):5396–5401. doi: 10.3892/mmr.2018.8521
22. Miousse IR, Chalbot MCG, Lumen A, et al. Response of transposable elements to environmental stressors. *Mutat Res Rev Mutat Res*. 2015;765:19–39. doi: 10.1016/j.mrrrev.2015.05.003
23. Ma HS, Wang EL, Xu WF, et al. Overexpression of DNA (Cytosine-5)-methyltransferase 1 (DNMT1) and DNA (Cytosine-5)-methyltransferase 3A (DNMT3A) is associated with aggressive behavior and hypermethylation of tumor suppressor genes in human pituitary adenomas. *Med Sci Monit*. 2018;24:4841–4850. doi: 10.12659/MSM.910608

ОБ АВТОРАХ

***Лавренов Антон Русланович**, к.б.н.;
адрес: Россия, 119071, Москва, Ленинский проспект, 33;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7318-8046>;
elibrary SPIN: 4081-9972;
e-mail: overtaki@mail.ru

Орджоникидзе Кристина Георгиевна,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2955-0631>;
elibrary SPIN: 1658-8379;
e-mail: chiris.ordj@gmail.com

Румак Владимир Степанович, д.м.н., профессор;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6645-8677>;
elibrary SPIN: 4477-5112;
e-mail: roumak@mail.ru

Ким Александр Иннокентьевич, д.б.н., профессор;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0398-8694>;
elibrary SPIN: 8606-4506;
e-mail: aikim57@mail.ru

Умнова Наталия Владимировна, д.б.н., профессор;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1615-2194>;
elibrary SPIN: 5586-0738;
e-mail: unv2014@mail.ru

AUTHORS INFO

***Anton R. Lavrenov**, Cand. Sci. (Biol.);
address: 33 Leninsky avenue, 119071, Moscow, Russia;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7318-8046>;
elibrary SPIN: 4081-9972;
e-mail: overtaki@mail.ru

Kristina G. Ordzhonikidze,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2955-0631>;
elibrary SPIN: 1658-8379;
e-mail: chiris.ordj@gmail.com

Vladimir S. Roumak, MD, Dr. Sci. (Med.), professor;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6645-8677>;
elibrary SPIN: 4477-5112;
e-mail: roumak@mail.ru

Alexander I. Kim, Dr. Sci. (Biol.), professor;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0398-8694>;
elibrary SPIN: 8606-4506;
e-mail: aikim57@mail.ru

Natalia V. Umnova, Dr. Sci. (Med.), professor;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1615-2194>;
elibrary SPIN: 5586-0738;
e-mail: unv2014@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco97249>

Интерпретация величины p и альтернативы её использованию в биомедицинских исследованиях

А.М. Гржибовский^{1,2,3,4}, А.Н. Гвоздецкий⁵¹ Северный государственный медицинский университет, г. Архангельск, Российская Федерация² Казахский национальный университет имени Аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан³ Западно-Казахстанский медицинский университет имени Марата Оспанова, г. Актобе, Казахстан⁴ Северо-восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова, г. Якутск, Российская Федерация⁵ Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Существенные проблемы с интерпретацией результатов статистического анализа в биомедицинских исследованиях часто упоминают в литературе в качестве одной из причин кризиса воспроизводимости научных результатов. Закономерно появились предложения по улучшению ситуации, в том числе за счёт полного отказа от представления величины p в публикациях.

В настоящей работе рассмотрены причины сложившейся ситуации в контексте исторически различных подходов к проверке статистических гипотез и представлены альтернативы использованию значения p — доверительные интервалы и величина эффекта. Приведены аргументы «за» и «против» высказываемого в зарубежных источниках литературы предложения по изменению критического уровня значимости с 0,05 до 0,005. Для профилактики ошибочной интерпретации результатов статистического анализа сформирован список наиболее популярных заблуждений о смысле величины p , которые разбираются в ведущих журналах по статистике.

В статье предложены практические рекомендации для молодых учёных, следование которым может существенно сократить случаи некорректной интерпретации результатов статистического анализа в биомедицинских исследованиях.

Ключевые слова: величина p ; уровень значимости; величина эффекта; доверительный интервал; биомедицинские исследования; статистический анализ.

Как цитировать:

Гржибовский А.М., Гвоздецкий А.Н. Интерпретация величины p и альтернативы её использованию в биомедицинских исследованиях // Экология человека. 2022. Т. 29. № 3. С. 209–218. DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco97249>

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco97249>

Interpretation of and alternatives to p -values in biomedical sciences

Andrej M. Grijbovski^{1,2,3,4}, Anton N. Gvozdeckii⁵

¹ Northern state medical university, Arkhangelsk, Russian Federation

² Al-Farabi Kazakh national university, Almaty, Kazakhstan

³ West Kazakhstan Marat Ospanov medical university, Aktobe, Kazakhstan

⁴ North-Eastern federal university, Yakutsk, Russian Federation

⁵ Mechnikov North-Western state medical university, St. Petersburg, Russian Federation

ABSTRACT

Existing difficulties in interpretation of the results of statistical analysis have been repeatedly mentioned as one of the factors behind poor reproducibility of research findings in biomedical sciences followed by a series of publications presenting alternatives to improve the situation including a abandonment of p -values and significance testing. In this paper we briefly present the scope of the problem as well as Fischer and Neyman–Pearson approaches to hypothesis testing. Moreover, we present confidence intervals and effect size calculation as alternatives to dichotomization of the results as significant or not significant using a certain cut-off level. In addition, we summarize the pros and cons of suggestion to change the cut-off value from traditional 0.05 to 0.005. We also present a list of the most common misunderstandings of p -values discussed in international statistical literature.

We conclude the paper with brief recommendations on careful interpretation of the results of statistical analysis to prevent misinterpretation and misuse of p -values in biomedical studies.

Keywords: p -value; significance level; effect size; confidence interval; biomedical research; statistical analysis.

To cite this article:

Grijbovski AM, Gvozdeckii AN. Interpretation of and alternatives to p -values in biomedical sciences. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2022;29(3): 209–218. DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco97249>

Received: 24.01.2022

Accepted: 25.01.2022

Published: 14.06.2022

ВВЕДЕНИЕ

Развитие персональной компьютерной техники обусловило широкое внедрение методов статистического анализа в естественные и гуманитарные науки, такие как психология, медицина, биология, социология и даже философия [1]. Появление технической возможности анализа эмпирических данных привело к ускоренному накоплению знаний, полученных из результатов исследований, в различных областях науки. Формирование клинических рекомендаций, создание сложного диагностического оборудования, разработка психометрических тестов были бы невозможны без доступных средств анализа данных. Вместе с тем закономерно образовалась проблема некорректного и местами даже нецелевого использования статистического инструментария, которая рассматривается в качестве одной из причин кризиса воспроизводимости в науках о здоровье [2–4]. Воспроизводимость результатов вне зависимости от места их получения является весомым аргументом при обосновании той или иной теоретической концепции. Множество проблем связано не со сложностью применяемых методов анализа, а с некорректной, часто необоснованно оптимистичной интерпретацией результатов. Как в зарубежной, так и в отечественной литературе встречаются неверные подходы к интерпретации полученных результатов и, как следствие, ошибочные выводы [5–8]. В отечественной литературе используются слова «значимость», «достоверность» без должной академической строгости [9]. Из-за масштабов проблемы некорректного понимания и избыточного использования величины p в зарубежной статистической литературе стали появляться предложения по изменению подходов к планированию исследований, статистическому анализу данных, их интерпретации, а также написанию и рецензированию научных работ [1, 10] вплоть до полного запрета на использование p -значения [11]. В русскоязычной литературе, особенно биомедицинской, данная проблема обсуждается крайне

редко, поскольку отечественные биомедицинские исследования не входят в число наиболее востребованных в международном научном сообществе.

Мы представляем теоретические рассуждения по данной проблеме, а также предлагаем пути решения с целью улучшения методологического качества отечественных научных публикаций.

ПАРАДИГМА ПРОВЕРКИ НУЛЕВОЙ ГИПОТЕЗЫ

Подход Фишера — проверка значимости нулевой гипотезы

Тестирование гипотезы с использованием подхода Фишера можно разложить на несколько шагов [12]:

- шаг 1 — выбрать необходимый статистический критерий, который соответствует исследовательскому вопросу и имеющимся данным;
- шаг 2 — определиться с нулевой гипотезой;
- шаг 3 — в зависимости от выбранных теоретических допущений рассчитать вероятность получения наблюдаемых результатов относительно нулевой гипотезы.

В ходе расчётов получается p -значение — вероятность того, что наблюдаемая статистика или её более экстремальные значения извлечены из такого распределения, которое соответствует нулевой гипотезе [13]. Следует обратить внимание, что это не точечное значение, а кумулятивная сумма вероятностей от наименьшего значения до наблюдаемой границы [12]. Данное значение численно равно площади под кривой распределения (рис. 1). При таком ходе рассуждений можно утверждать, что величина p -значения является количественной (вероятностной) мерой доказательства против нулевой гипотезы [12], иными словами, это вероятность обнаружить выявленные или ещё более выраженные различия, если их на самом деле не существует. В итоге исследователю необходимо

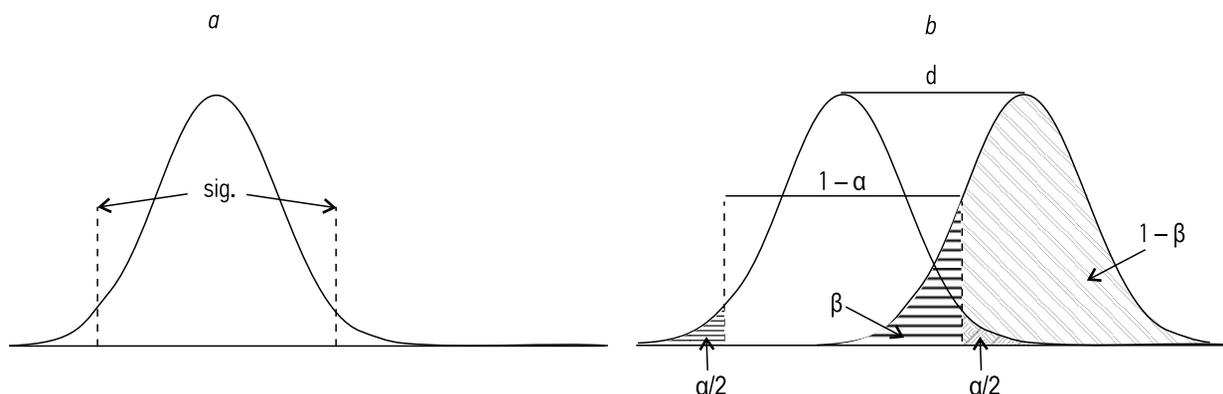


Рис. 1. Графическое сравнение подходов к тестированию статистических гипотез: а — тестирование значимости по Фишеру; б — тестирование принятия по Нейману–Пирсону; sig. — уровень значимости, d — величина эффекта, α — вероятность ошибки первого рода, β — вероятность ошибки второго рода.

Fig. 1. Graphical comparison of approaches to statistical hypothesis testing: a — Fisher significance testing; b — Neymann–Pearson acceptance testing; sig. — significance level, d — effect size, α — probability of Type I error, β — probability of Type II error.

определился, принять или отклонить нулевую гипотезу. Порог принятия решений остаётся на усмотрение исследователя, но в большинстве биомедицинских статей принимается равным 0,05, что достаточно регулярно подвергается критике в специализированных изданиях.

Подход Неймана–Пирсона — механизм принятия решений

Несмотря на логичность подхода Фишера к тестированию статистической гипотезы, было выполнено множество исследований, в ходе которых предлагались различные улучшения. В научную практику вошёл принцип тестирования нулевой гипотезы Неймана–Пирсона. Основное его отличие от подхода Фишера — чётко проговариваемая альтернативная гипотеза [14], в качестве которой выступает распределение с параметрами, отличными от изучаемого.

Другое существенное отличие от подхода Фишера — принцип контроля частоты ошибок [14]. Напомним, что различают два рода ошибок, относящихся к проверке статистических гипотез:

- ошибка первого рода (type I error, или альфа-ошибка) характеризуется отклонением верной нулевой гипотезы, т.е. когда исследователь делает заключение о том, что различия есть, а на самом деле их нет;
- ошибка второго рода (type II error, бета-ошибка) — это принятие ложной нулевой гипотезы, т.е. исследователь делает вывод о том, что различий нет, а на самом деле они есть.

В практическом смысле эти ошибки эквивалентны понятиям ложноположительного и ложноотрицательного результата соответственно. Контроль заключается в наличии заранее определённых величин ошибок, которые будут лежать в основе принятия решений. Так, число альфа (α) является вероятностью совершить ошибку первого рода, а число бета (β) — вероятностью совершить ошибку второго рода. Значение $(1-\beta)$ называется статистической мощностью. В сущности мощность — это вероятность корректного отклонения нулевой гипотезы в пользу альтернативной [15]. Простыми словами — это вероятность отклонить нулевую гипотезу (сделать заключение о наличии различий, если они на самом деле есть). В процессе планирования исследований важно держать под контролем вероятность альфа- и бета-ошибок. Для этого рассчитывается

необходимый объём выборки. Способ принятия решений по Нейману–Пирсону отражён в табл.

Данный подход прекрасно объясняется «житейскими» примерами из различных областей жизнедеятельности.

В качестве первого примера рассмотрим процесс принятия решения при проведении судебного разбирательства. По умолчанию (нулевая гипотеза) считается, что человек невиновен (презумпция невиновности). Альтернативной гипотезой для невиновности является виновность подсудимого. Обвинению необходимо предоставить доказательства против невиновности подсудимого. В идеале доказательств должно быть достаточно, чтобы изменить первоначальное представление о невиновности, тем самым отклонив исходное допущение, т.е. нулевую гипотезу. Если доказательств окажется достаточно для подтверждения вины подсудимого (хотя в действительности он не совершал преступления), будет совершена ошибка первого рода, или альфа-ошибка. Если же доказательств о виновности подсудимого недостаточно, то он не будет признан виновным, даже совершив преступление, что является ошибкой второго рода, или бета-ошибкой.

Разберём другой пример. Для обеспечения транспортной безопасности в аэропорту необходимо проходить через арочный металлодетектор. По умолчанию рамка не издаёт никаких звуков, но, если в её зону попадает металлический предмет, генерируется звуковой сигнал. Кроме корректного звукового сигнала в случае наличия металлического предмета и корректного отсутствия сигнала в случае отсутствия металлического предмета могут быть ещё два нежелательных, т.е. ошибочных исхода. Рамка может издать звуковой сигнал в случае, когда у пассажира нет никаких металлических предметов (альфа-ошибка). Возможно также отсутствие реакции металлодетектора на проносимый металлический предмет (бета-ошибка).

В качестве третьего примера обсудим процесс диагностики изучаемого медицинского состояния с помощью интересующего нас диагностического маркера. На основании исходных знаний о патогенезе данного состояния допускаем, что при отсутствии изучаемого состояния у человека нет интересующего нас маркера. Обнаружение маркера является свидетельством в пользу наличия заболевания. Как и в предыдущих примерах, возможны следующие ситуации: первый вариант — биомаркер обнаружен, несмотря на отсутствие изучаемого состояния

Таблица. Взаимосвязь гипотез и ошибок при принятии решения

Table. Relationship between hypotheses and errors in decision-making

Принимаемое решение Decision made	Истинное состояние / True state	
	нулевая гипотеза верна / true null hypothesis	нулевая гипотеза ошибочна / false null hypothesis
Принимаем нулевую гипотезу	Корректное решение	Ошибка второго рода
Отклоняем нулевую гипотезу	Ошибка первого рода	Корректное решение

(альфа-ошибка); второй вариант — биомаркёр не выявлен, но имеется чёткая клиническая картина, соответствующая изучаемому состоянию (бета-ошибка). Можно привести также и другие примеры.

КОНЦЕПТУАЛЬНАЯ ПРОБЛЕМА *p*-ЗНАЧЕНИЯ И ПУТИ ЕЁ РЕШЕНИЯ

Согласно Рональду Фишеру, в основе тестирования статистической гипотезы лежит доказательство от противного и *p*-значение оценивает силу доказательства против нулевой гипотезы в одном исследовании. Таким образом, *p*-значение не подразумевает частотной интерпретации и относится только к наблюдаемому набору данных. Однако величину ошибки первого рода целесообразно установить заранее. Этому есть частотное объяснение: при большом количестве проверок гипотез с использованием данных, извлечённых из одной и той же генеральной совокупности, истинная нулевая гипотеза ошибочно будет отклонена в некотором проценте случаев. В таком случае *p*-значение не является силой доказательства против нулевой гипотезы: она или верна, или нет [12]. Желание контролировать ошибку второго рода тоже понятно, так как отсутствие результата из-за нехватки достаточного набора наблюдений — это неэффективное расходование ресурсов, включая временные. При использовании подхода Неймана–Пирсона заранее определяются допустимые уровни альфа- и бета-ошибок, а также те различия, которые мы считаем важными с практической точки зрения. На основании значений ошибок и ожидаемых различий рассчитывается необходимый объём выборки, на которой и выполняется исследование. В этом случае расчёт достигнутого уровня значимости не нужен, так как он будет меньше критического при выявлении ожидаемых или более выраженных различий.

Графическое различие между двумя подходами показано на рис. 1. Подход Фишера можно описать как частный случай подхода Неймана–Пирсона, в котором значительное количество факторов (ошибки, величина эффекта) не контролируются. В настоящее время наблюдается смешение вышеупомянутых подходов. Сложившаяся ситуация может приводить к ошибкам на этапе планирования, а также вести к некорректной интерпретации результатов, что в свою очередь даёт повод усомниться в качестве исследования и целесообразности использования его результатов в практической деятельности. Специалистами предлагались различные пути решения проблемы. Мы кратко остановимся только на некоторых.

Доверительный интервал

Несмотря на то, что доверительный интервал и *p*-значение имеют тесную связь, они несут различную информацию [16]. Доверительный интервал по величине противоположен вероятности ошибки первого рода

(1–β). Из этого следует, что в нём не содержатся значения, которые мы бы хотели отклонить при заданном уровне альфа-ошибки. Это его роднит с точечными оценками, которые основаны на вычислении *p*-значения. Вместе с тем доверительный интервал позволяет оценить ожидаемый размер эффекта, что явно более информативно. В сущности доверительный интервал подразумевает, что если выборки взяты из одной и той же генеральной совокупности (популяции) с использованием одинакового метода извлечения (сбора) данных, то заданный процент их доверительных интервалов будет включать истинное значение интересующего параметра.

В качестве типового примера приведём оценку среднего значения для нормального распределения с использованием не менее типового 95% доверительного интервала (1–0,05=0,95). При проведении единичного эксперимента вычисляются среднее арифметическое значение и доверительный интервал. При повторе эксперимента бесконечно большое количество раз 95% вновь вычисленных доверительных интервалов будут включать искомое значение. Демонстрация данного принципа приведена на рис. 2. При помощи генератора случайных чисел 100 раз создавалась выборка размером в 100 наблюдений со средним значением 0, стандартным отклонением 1. В данном простом симуляционном эксперименте оказалось, что 6% значений не содержат ожидаемого среднего.

Тем не менее доверительный интервал не является панацеей, так как его интерпретация не всегда корректна. В литературе часто объясняют доверительный интервал как вероятность того, что интересующий параметр будет принимать значение в заданных границах 95% времени [14]. Для примера среднего значения некорректная, но часто встречающаяся трактовка звучит так: 95% доверительного интервала среднего значения, вычисленного по выборке, включает среднее значение совокупности (популяции) с вероятностью 95%. Ошибка связана с расчётом доверительного интервала на реальных данных (10, 100, 1000 наблюдений и т.д.), которые не равны общей совокупности [16]. Изменение ширины доверительного интервала оцениваемого параметра в зависимости от увеличения количества наблюдений приведено на рис. 3. Увеличение размера выборки повышает точность наших оценок, что положительно сказывается на мощности статистических критериев.

Величина эффекта

Проверка статистической значимости не несёт никакой информации о том, насколько выявленные различия сильны. Мысль о том, что связь, для которой $p < 0,001$ сильнее или имеет более высокую клиническую значимость, чем связь, для которой $p = 0,043$, является глубоко ошибочной. Подобная интерпретация силы связи по величине абсолютного значения достигнутого уровня значимости довольно часто встречается в отечественной медицинской научной литературе.

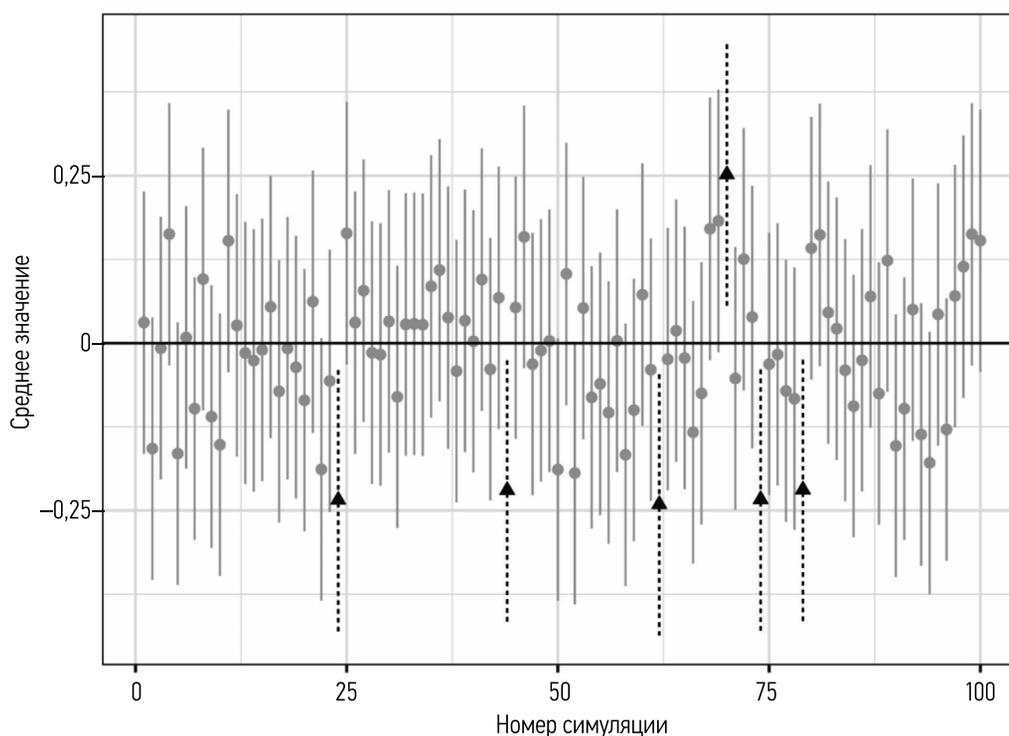


Рис. 2. Демонстрация концепции доверительного интервала.
Fig. 2. Demonstration of the confidence interval concept.

Доверительный интервал ситуацию радикально не исправляет, так как содержит информацию только о возможном диапазоне значений. Куда более важно наличие «линейки» (единиц измерения), при помощи которой можно объективизировать «расстояние» между интересующими данными точно так же, как это делается при измерении массы, температуры, силы тока и т.п. Величина (сила) эффекта — это количественная характеристика ошибочности нулевой гипотезы [17]. Если нулевая гипотеза верна (оцениваемые параметры одинаковы, нет никакой ассоциации или связи между признаками), то сила

эффекта равна нулю. Наглядное отображение концепции силы эффекта приведено на рис. 4.

Существует большое количество мер силы эффекта [15, 18]: d Коэна, отношение шансов (odds ratio), относительный риск (relative risk), r (коэффициент корреляции Пирсона) и т.д. Вне зависимости от меры силы эффекта при планировании следует опираться на минимально значимый эффект или минимально клинически важный эффект. Это та граница, для преодоления которой необходима адекватная статистическая мощность критерия (для мощности рассчитывается минимально приемлемый объем выборки). При возрастании объема выборки мощность увеличивается [19], за счёт чего можно выявить сколь угодно малый статистически значимый эффект [18], который может иметь ничтожное значение с точки зрения практической деятельности. Наоборот, если сила эффекта достаточно высока, нет нужды собирать большой массив данных и тратить лишние ресурсы. Яркой демонстрацией разницы между силой эффекта и p -значением является наблюдаемая в практике пропасть между клинической эффективностью и статистически значимыми результатами [15]. Напомним, что возможны четыре варианта:

- клинически незначимо и статистически незначимо;
- статистически значимо, клинически незначимо;
- статистически значимо, клинически значимо;
- статистически незначимо, клинически значимо.

Перечень вариантов напоминает табл., так как это точно та же проблема принятия решений. В данном направлении

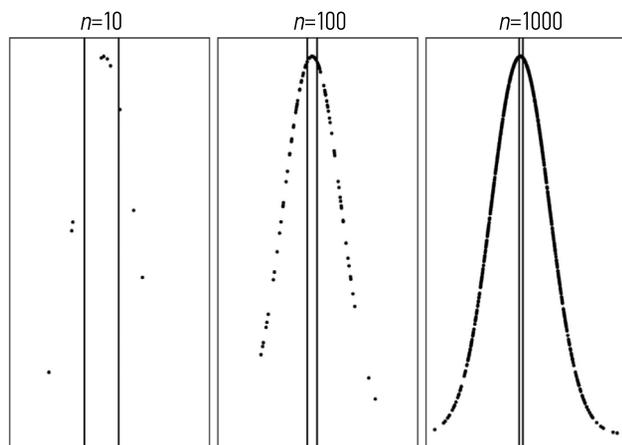


Рис. 3. Изменение ширины доверительного интервала в зависимости от объема наблюдений.
Fig. 3. Change in the width of the confidence interval depending on the number of observations.

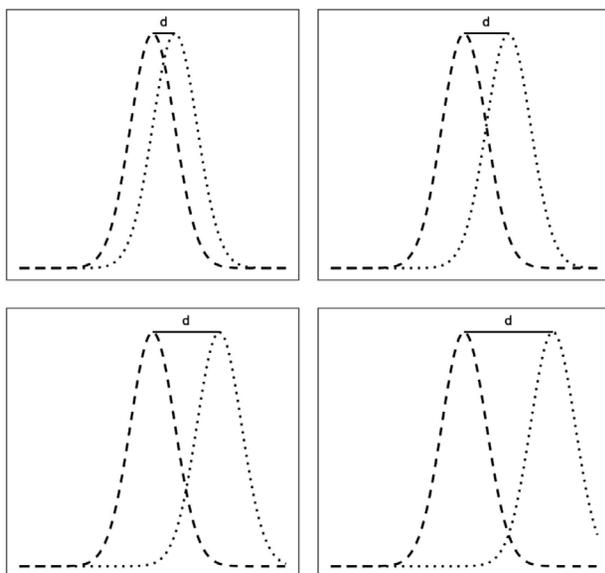


Рис. 4. Демонстрация концепции силы эффекта.
Fig. 4. Demonstration of the effect size concept.

есть предложения по более детальной классификации с учётом накопленного опыта [20], но принципиальная суть остаётся той же.

Сила эффекта — это именно то, что интересует исследователя. Самым наглядным примером важности силы эффекта является соотношение «сигнал–шум» из теории обнаружения сигналов, которое касается не только работы металлодетектора, но и мистических и паранормальных явлений [21]. Однако широкому внедрению силы эффекта в повседневную практику, на наш взгляд, мешает ряд проблем. Во-первых, отсутствие должного освещения данного вопроса в образовательных программах уменьшает вероятность использования силы эффекта в реальной практике. Отсутствие примеров использования силы эффекта в публикациях приводит к невостребованности изучения данной темы. Невостребованность показателя в практике ограничивает внедрение расчётов силы эффекта в программное обеспечение. Во-вторых, несмотря на достаточное количество литературы, в основном англоязычной, поиск информации о расчётах различных мер силы эффекта может быть сложной задачей. Этот пробел в отечественной литературе нуждается в восполнении, однако отправной точкой поиска может стать список литературы под основным текстом статьи. В-третьих, достаточно сложные и комплексные исследовательские вопросы требуют такого же трудоёмкого анализа, который не ограничивается традиционным набором статистических критериев. Это приводит к ещё большему повышению требований к специалистам в вопросах владения навыками статистического анализа, а также умения составить концепцию исследования, грамотно определить измеримый научный вопрос, разработать и реализовать

математическую модель и грамотно интерпретировать полученные результаты.

Уменьшение порогового значения

На сегодняшний день общепринятое критическое значение уровня значимости составляет 0,05, по крайней мере в биомедицинских исследованиях, с редкими исключениями. Допускается, что в каждом двадцатом случае исследователь может получить ложноположительный результат. Есть предложение изменить сложившуюся практику и уменьшить значение критического уровня значимости в 10 раз, т.е. сделать его не 0,05, а 0,005 для профилактики таких ложных открытий [22]. Данное предложение вытекает из байесовского подхода пересчёта вероятностей, который, впрочем, не лишён проблем и ограничений [23]. Расчёты демонстрируют, что при $p=0,005$ истинная нулевая гипотеза может быть отклонена только в 6,7% случаев [22]. Аналогичные расчёты показывают, что использование 0,05 в качестве критического значения может привести к ложным открытиям или ошибочному принятию справедливой нулевой гипотезы в 28,9% случаев [19]! Последствиями ложных открытий может стать назначение не более эффективного лекарства взамен уже использующегося и часто более дешёвого препарата; написание бесполезных профилактических программ, связанных с устранением влияния несуществующего фактора риска, и т.д.

Сдвиг точки разделения для уровня значимости не решает принципиальную проблему восприятия контекста и непрерывности p -значения. Мощность статистического критерия зависит от размера выборки, поэтому легко смоделировать ситуацию, когда $p=0,005$ на малой выборке будет отсекал интересующий нас эффект, в то время как с ростом выборки даже такого значения не хватит, чтобы отсеять неинформативные случайные находки. Понимание данной проблемы привело к предложению делать критическое значение индивидуальным для каждого конкретного случая [24]. Это является следствием идеи, что искомый эффект — клинический, экономический или любой другой — может варьировать от слабого до сильного. Никакого толка от того, будет ли преодолён порог 0,05, 0,005 и т.д., нет, пока отсутствует количественная оценка интересующего исследователей эффекта [24].

Следует также упомянуть и другие аргументы против данной позиции. При 80% мощности сдвиг порогового значения может приводить к увеличению необходимой выборки на 70% [25], что весьма затратно. Это усугубит проблему невозможности доказать эффективность клинически важных эффектов из-за их сложности и часто слабой выраженности [26], что приведёт к ещё большему расхождению между теорией и практикой. В работе А. Vexler [27] утверждается справедливость «народной мудрости» при выборе значения $p=0,05$ на основе ещё более сложных вычислительных экспериментов.

ЗАБЛУЖДЕНИЯ, КАСАЮЩИЕСЯ *p*-ЗНАЧЕНИЯ

Ниже перечислены наиболее часто встречающиеся заблуждения, однако перечень не является исчерпывающим [10]:

- *p* говорит о вероятности того, что отклонение нулевой гипотезы объясняется случайностью;
- статистическая значимость устанавливает наличие важного эффекта;
- $p < 0,05$ доказывает, что у нас есть поддержка проверяемой гипотезы;
- $p < 0,05$ — это «значимый» результат, $p < 0,01$ — «очень значимый», а $p < 0,001$ — «высоко значимый» (чаще даже встречается не «значимый», а «достоверный»);
- *p* является подходящей метрикой для тех, кто заинтересован в развитии теории, а размер эффекта имеет значение только тогда, когда речь идёт о практическом применении;
- уровень *p* указывает на вероятность того, что результат не повторится, если исследование будет повторено;
- уровень *p* предсказывает количество статистических результатов, которые были бы значимы случайно;
- нулевая гипотеза — это научная гипотеза;
- отклонение нулевой гипотезы означает, что альтернатива верна;
- *p* — это то же самое, что и альфа-ошибка;
- проверка значимости нулевой гипотезы всё чаще рассматривает надёжность как замену валидности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на декларирование приверженности концепции принятия решений Неймана–Пирсона, на практике большинство исследователей в науках о здоровье

следуют в русле подхода Фишера. Ошибочная интерпретация *p*-значения во многом является следствием недостаточного качества преподавания (это предположение справедливо для большинства российских вузов, по крайней мере медицинских). Помимо объяснения сущности величины *p* и её значения следует представлять информацию и о других аспектах проверки статистических гипотез.

В нашей работе не рассмотрено много других «подводных камней», связанных с *p*-значением (например, проблемы множественных сравнений). Из всего набора полезных рекомендаций по повышению качества исследований мы хотели бы отметить критически важную: из четырёх рассматриваемых параметров (вероятность ошибки первого рода, вероятность ошибки второго рода, сила эффекта, количество наблюдений) три необходимо выбрать до проведения исследования и соответственно вычислить четвёртый.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFORMATION

Вклад авторов. Оба автора подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. А.М. Гржибовский и А.Н. Гвоздецкий оба участвовали в разработке концепции, проведении исследования и подготовке первого варианта рукописи, внесли изменения во все последующие варианты рукописи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Author contribution. Both authors participated in the development of the concept of the article, the preparation of the first version of the manuscript, amendments to all subsequent versions of the manuscript, and approved the final version of the text.

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Competing interests. The authors declare that they have no competing.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Polonioli A., Vega-Mendoza M., Blankinship B., Carmel D. Reporting in experimental philosophy: current standards and recommendations for future practice // *Rev Philos Psychol*. 2021. Vol. 12, N 1. P. 49–73. doi: 10.1007/s13164-018-0414-3
2. Amrhein V., Trafimow D., Greenland S. Inferential statistics as descriptive statistics: there is no replication crisis if we don't expect replication // *The American statistician*. 2019. Vol. 73. Suppl. 1. P. 262–270. doi: 10.1080/00031305.2018.1543137
3. Amrhein V., Korner-Nievergelt F., Roth T. The earth is flat ($p > 0.05$): significance thresholds and the crisis of unreplicable research // *PeerJ*. 2017. Vol. 5. P. e3544. doi: 10.7717/peerj.3544
4. Szucs D., Ioannidis J. When null hypothesis significance testing is unsuitable for research: a reassessment // *Front Hum Neurosci*. 2017. Vol. 11. P. 390. doi: 10.3389/fnhum.2017.00390
5. Аканов А.А., Турдалиева Б.С., Изекенова А.К., и др. Оценка использования статистических методов в научных статьях медицинских журналов Казахстана. // *Экология человека*. 2013. Т. 20, № 5. С. 61–64.
6. Dorey F. The p value: what is it and what does it tell you? // *Clin Orthop Relat Res*. 2010. Vol. 468, N 8. P. 2297–2298. doi: 10.1007/s11999-010-1402-9
7. Haller H., Krauss S. Misinterpretations of significance: a problem students share with their teachers? // *Methods of psychological research*. 2002. Vol. 7, N 1. P. 1–20.
8. Palesch Y.Y. Some common misperceptions about p-values // *Stroke*. 2014. Vol. 45, N 12. P. e244–e246. doi: 10.1161/STROKEAHA.114.006138

9. Зорин Н.А. «Достоверность» или «статистическая значимость» — 12 лет спустя // Педиатрическая фармакология. 2011. Т. 8, № 5. С. 13–19.
10. Kmetz J.L. Correcting corrupt research: recommendations for the profession to stop misuse of p-values // *The American statistician*. 2019. Vol. 73. Suppl. 1. P. 36–45. doi: 10.1080/00031305.2018.1518271
11. McShane B.B., Gal D., Gelman A., Robert C., Tackett J.L. Abandon statistical significance // *The American statistician*. 2019. Vol. 73. Suppl. 1. P. 235–245. doi: 10.1080/00031305.2018.1527253
12. Perezgonzalez J.D. Fisher, Neyman–Pearson or NHST? A tutorial for teaching data testing // *Front Psychol*. 2015. Vol. 6. P. 223. doi: 10.3389/fpsyg.2015.00223
13. Lew M.J. Bad statistical practice in pharmacology (and other basic biomedical disciplines): you probably don't know p: statistical inference using p-values // *Br J Pharmacol*. 2012. Vol. 166, N 5. P. 1559–1567. doi: 10.1111/j.1476-5381.2012.01931.x
14. Pernet C. Null hypothesis significance testing: a guide to commonly misunderstood concepts and recommendations for good practice // *F1000Research*. 2017. Vol. 4. P. 621. doi: 10.12688/f1000research.6963.5
15. Serdar C.C., Cihan M., Yücel D., Serdar M.A. Sample size, power and effect size revisited: simplified and practical approaches in pre-clinical, clinical and laboratory studies // *Biochem Med (Zagreb)*. 2021. Vol. 31. N 1. P. 010502. doi: 10.11613/BM.2021.010502
16. Lee D.K. Alternatives to p value: confidence interval and effect size // *Korean J Anesthesiol*. 2016. Vol. 69, N 6. P. 555–562. doi: 10.4097/kjae.2016.69.6.555
17. Grissom R.J., Kim J.J. Effect sizes for research. 2nd ed. New York : Routledge; 2012. doi: 10.4324/9780203803233
18. Sullivan G.M., Feinn R. Using effect size — or why the p value is not enough // *J Grad Med Educ*. 2012. Vol. 4, N 3. P. 279–282. doi: 10.4300/JGME-D-12-00156.1
19. Colquhoun D. An investigation of the false discovery rate and the misinterpretation of p-values // *R Soc Open Sci*. 2014. Vol. 1, N 3. P. 140216. doi: 10.1098/rsos.140216
20. Stahel W.A. New relevance and significance measures to replace p-values // *PLoS One*. 2021. Vol. 16, N 6. P. e0252991. doi: 10.1371/journal.pone.0252991
21. Anderson N.D. Teaching signal detection theory with pseudoscience // *Front Psychol*. 2015. Vol. 6. P. 762. doi: 10.3389/fpsyg.2015.00762
22. Benjamin D.J., Berger J.O., Johannesson M., et al. Redefine statistical significance // *Nat Hum Behav*. 2018. Vol. 2, N 1. P. 6–10. doi: 10.1038/s41562-017-0189-z
23. Рубанович А.В. Пересмотр критического уровня значимости (0.005 вместо 0.05): байесовский след // *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2018. Т. 58, № 5. С. 453–462. doi: 10.1134/S0869803118050156
24. Betensky R.A. The p-value requires context, not a threshold // *The American statistician*. 2019. Vol. 73. Suppl. 1. P. 115–117. doi: 10.1080/00031305.2018.1529624
25. Lakens D., Adolphi F.G., Albers C.J., et al. Justify your alpha // *Nature human behaviour*. 2018. Vol. 2, N 3. P. 168–171. doi: 10.1038/s41562-018-0311-x
26. Di Leo G., Sardanelli F. Statistical significance: p value, 0.05 threshold, and applications to radiomics — reasons for a conservative approach // *Eur Radiol Exp*. 2020. Vol. 4, N 1. P. 1–8. doi: 10.1186/s41747-020-0145-y
27. Vexler A. Valid p-values and expectations of p-values revisited // *Ann Inst Stat Math*. 2021. Vol. 73. P. 227–248. doi: 10.1007/s10463-021-00800-8

REFERENCES

1. Polonioli A, Vega-Mendoza M, Blankinship B, Carmel D. Reporting in experimental philosophy: current standards and recommendations for future practice. *Rev Philos Psychol*. 2021;12(1):49–73. doi: 10.1007/s13164-018-0414-3
2. Amrhein V, Trafimow D, Greenland S. Inferential statistics as descriptive statistics: there is no replication crisis if we don't expect replication. *The American statistician*. 2019;73(supl. 1):262–270. doi: 10.1080/00031305.2018.1543137
3. Amrhein V, Korner-Nievergelt F, Roth T. The earth is flat (p > 0.05): significance thresholds and the crisis of unreplicable research. *PeerJ*. 2017;5:e3544. doi: 10.7717/peerj.3544
4. Szucs D, Ioannidis J.P.A. When null hypothesis significance testing is unsuitable for research: a reassessment. *Front Hum Neurosci*. 2017;11:390. doi: 10.3389/fnhum.2017.00390
5. Akanov A, Turdaliyeva BS, Izenkova AK, et al. Assessment of use of statistical methods in scientific articles of the Kazakhstan's medical journals. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2013;20(5):61–64. (In Russ).
6. Dorey F. The p value: what is it and what does it tell you? *Clin Orthop Relat Res*. 2010;468(8):2297–2298. doi: 10.1007/s11999-010-1402-9
7. Haller H. Misinterpretations of significance: a problem students share with their teachers? *Methods of psychological research*. 2002;7(1):1–20.
8. Palesch YY. Some common misperceptions about p-values. *Stroke*. 2014;45(12):e244–e246. doi: 10.1161/STROKEAHA.114.006138
9. Zorin NA. «Validity» or «significance» — 12 years later. *Pediatric Pharmacology*. 2011;8(5):13–19. (In Russ).
10. Kmetz JL. Correcting corrupt research: recommendations for the profession to stop misuse of p-values. *The American statistician*. 2019;73(supl. 1):36–45. doi: 10.1080/00031305.2018.1518271
11. McShane BB. Abandon statistical significance. *The American statistician*. 2019;73(supl. 1):235–245. doi: 10.1080/00031305.2018.1527253
12. Perezgonzalez JD. Fisher, Neyman–Pearson or NHST? A tutorial for teaching data testing. *Front Psychol*. 2015;6:223. doi: 10.3389/fpsyg.2015.00223
13. Lew MJ. Bad statistical practice in pharmacology (and other basic biomedical disciplines): you probably don't know p: statistical inference using p-values. *Br J Pharmacol*. 2012;166(5):1559–1567. doi: 10.1111/j.1476-5381.2012.01931.x
14. Pernet C. Null hypothesis significance testing: a guide to commonly misunderstood concepts and recommendations for good practice. *F1000Research*. 2017;4:621. doi: 10.12688/f1000research.6963.5
15. Serdar CC, Cihan M, Yücel D, Serdar MA. Sample size, power and effect size revisited: simplified and practical approaches in

- pre-clinical, clinical and laboratory studies. *Biochem Med (Zagreb)*. 2021;31(1):010502. doi: 10.11613/BM.2021.010502
16. Lee DK. Alternatives to p value: confidence interval and effect size. *Korean J Anesthesiol*. 2016;69(6):555–562. doi: 10.4097/kjae.2016.69.6.555
 17. Grissom RJ, Kim JJ. *Effect sizes for research*. 2nd ed. New York: Routledge; 2012. doi: 10.4324/9780203803233
 18. Sullivan GM, Feinn R. using effect size — or why the p value is not enough. *J Grad Med Educ*. 2012;4(3):279–282. doi: 10.4300/JGME-D-12-00156.1
 19. Colquhoun D. An investigation of the false discovery rate and the misinterpretation of p-values. *R Soc Open Sci*. 2014;1(3):140216. doi: 10.1098/rsos.140216
 20. Stahel WA. New relevance and significance measures to replace p-values. *PLoS One*. 2021;16(6):e0252991. doi: 10.1371/journal.pone.0252991
 21. Anderson N.D. Teaching signal detection theory with pseudoscience. *Front Psychol*. 2015;6:762. doi: 10.3389/fpsyg.2015.00762
 22. Benjamin DJ, Berger JO, Johannesson M, et al. Redefine statistical significance. *Nat Hum Behav*. 2018;2(1):6–10. doi: 10.1038/s41562-017-0189-z
 23. Rubanovich AV. Redefining the critical value of significance level (0.005 instead of 0.05): the bayes trace. *Radiation biology. Radioecology*. 2018;58(5):453–462. (In Russ.). doi: 10.1134/S0869803118050156
 24. Betensky RA. The p-value requires context, not a threshold. *The American statistician*. 2019;73(supl. 1):115–117. doi: 10.1080/00031305.2018.1529624
 25. Lakens D, Adolphi, FG, Albers CJ, et al. Justify your alpha. *Nature human behaviour*. 2018;2(3):168–171. doi: 10.1038/s41562-018-0311-x
 26. Di Leo G, Sardanelli F. Statistical significance: p value, 0.05 threshold, and applications to radiomics — reasons for a conservative approach. *Eur Radiol Exp*. 2020;4(1):1–8. doi: 10.1186/s41747-020-0145-y
 27. Vexler A. Valid p-values and expectations of p-values revisited // *Ann Inst Stat Math*. 2021;73:227–248. doi: 10.1007/s10463-021-00800-8

ОБ АВТОРАХ

***Гржибовский Андрей Мечиславович**, PhD;
адрес: Россия, 163061, Архангельск, Троицкий проспект, д. 51;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5464-0498>;
eLibrary SPIN: 5118-0081;
e-mail: andrej.grjibovski@gmail.com

Гвоздецкий Антон Николаевич, к.м.н.;
адрес: Россия, 191015, Санкт-Петербург, ул. Кировная, 41;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8045-1220>;
eLibrary SPIN: 4430-6841;
e-mail: gvozdetskiy_an@outlook.com

AUTHORS INFO

***Andrej M. Grjibovski**, MD, MPhil, PhD;
address: 51 Troitsky avenue, 163061, Arkhangelsk, Russia;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5464-0498>;
eLibrary SPIN: 5118-0081;
e-mail: andrej.grjibovski@gmail.com

Anton N. Gvozdeckii, MD, Cand. Sci. (Med.);
address: 41 Kirochnaya st., 191015, St. Petersburg, Russia;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8045-1220>;
eLibrary SPIN: 4430-6841;
e-mail: gvozdetskiy_an@outlook.com

*Автор, ответственный за публикацию / Corresponding author